

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C07D 205/04, C07K 5/06	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/37611 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Juli 1999 (29.07.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/00435 (22) Internationales Anmeldedatum: 23. Januar 1999 (23.01.99) (30) Prioritätsdaten: 198 02 802.4 26. Januar 1998 (26.01.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AK- TIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BAUCKE, Dorit [DE/DE]; Bellenstrasse 58, D-68163 Mannheim (DE). LANGE, Udo [DE/DE]; Sternstrasse 217, D-67063 Ludwigshafen (DE). MACK, Helmut [DE/DE]; Neustadter Ring 80, D-67067 Ludwigshafen (DE). SEITZ, Werner [DE/DE]; Bismarck- strasse 22b, D-68723 Plankstadt (DE). HÖFFKEN, Hans, Wolfgang [DE/DE]; Dammstückerweg 37, D-67069 Lud- wigshafen (DE). HORNBERGER, Wilfried [DE/DE]; Gold- ener Winkel 14, D-67434 Neustadt (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT; D-67056 Ludwigshafen (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BG, BR, BY, CA, CN, CZ, GE, HU, ID, IL, IN, JP, KR, KZ, LT, LV, MK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TR, UA, US, eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
<p>(54) Title: HETEROCYCLIC AMIDINES AS CALLICREIN PROTEASE INHIBITORS</p> <p>(54) Bezeichnung: HETEROCYCLISCHE AMIDINE ALS KALLIKREIN PROTEASE INHIBITOREN</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to compounds of the formula A-B-D-E-F, in which A, B, D, E and F have the meanings given in the description, and to their production. These new compounds are suitable for producing medicines.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Es werden Verbindungen der Formel A-B-D-E-F, worin A, B, D, E und F die in der Beschreibung angegebene Bedeutung besitzen, und deren Herstellung beschrieben. Die neuen Verbindungen eignen sich zur Herstellung von Medikamenten.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauritanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

HETEROCYCLISCHE AMIDINE ALS KALLIKREIN PROTEASE INHIBITOREN

Beschreibung

5

Die vorliegende Erfindung betrifft neue fünfgliedrige heterocyclische Amidine, ihre Herstellung und ihre Verwendung als kompetitive Inhibitoren von Kininogenasen wie Kallikrein und Trypsin-ähnlichen Serinproteasen, besonders Thrombin. Die

10 Erfindung bezieht sich auch auf pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Verbindungen als aktive Bestandteile enthalten, sowie die Verwendung der Verbindungen als antiinflammatorische Agenzien, Thrombininhibitoren und Antikoagulantien.

15

Kininogenasen sind Serinproteasen, die aus Kininogenen vasoaktive Peptide, die sog. Kinine (Bradykinin, Kallidin und Met-Lys-bradykinin), freisetzen. Kininogene stellen multifunktionale Proteine dar, die in Kaskadenreaktionen der Gerinnung und Entzündung auftreten. Als Inhibitoren schützen sie Zellen vor der Zerstörung durch Cystein-Proteasen (Müller Esterl, 1985, FEBS Lett. 182, 310-314). Wichtige Kininogenasen sind Plasma-Kallikrein, Gewebs-Kallikrein und Mastzellen-Tryptase.

25 Kinine wie Bradykinin und Kallidin sind vasoaktive Peptide, die eine Vielzahl biologischer Prozesse beeinflussen. Sie spielen in entzündlichen Prozessen eine wesentliche Rolle. Durch Erhöhung der vaskulären Permeabilität führen sie zu Hypotension und Ödemen. Weiterhin sind sie sehr potente schmerzproduzierende körpereigene Substanzen und haben als zelluläre Mediatoren in der Pathophysiologie des Asthmas, der allergischen Rhinitis und der Arthritis große Bedeutung (K.D. Bhoola, C.D. Figueroa, K. Worthy, Pharmacological Reviews 1992, 44 (1), 1-80).

35 Unabhängig von den Mechanismen, die entzündlichen Prozessen zugrundeliegen, kommt es zum Austritt von Flüssigkeit aus den Blutgefäßen, die alle Protein-Systeme des zirkulierenden Blutes enthält. Das bedeutet, daß der Austritt von Plasmaflüssigkeit aus den Gefäßen in Krankheiten wie Asthma, Rhinitis und entzündungsbedingten inneren Krankheiten eine Rolle spielt. Besonders in allergischen Prozessen wird dabei Mastzell-Tryptase freigesetzt (Salomonsson et al., Am. Rev. Respir. Dis., 1992, 146, 1535-1542).

45

Die Arginin-Chloromethylketone H-(D)-Pro-Phe-Arg-CH₂Cl und H-(D)-Phe-Phe-Arg-CH₂-Cl wurden von Kettner und Shaw als Plasma-Kallikreininhibitoren beschrieben (Biochem. 1978, 17, 4778-4784 und Meth. Enzym. 1981, 80, 826-842).

5

Verschiedene synthetische Derivate von Benzamidinen und Benzyl-aminen erwiesen sich als Inhibitoren von Plasmakallikrein, wobei die Benzamidine eine wesentlich stärkere inhibitorische Wirkung aufwiesen (F. Markward, S. Drawert, P. Walsmann, Biochemical

10 Pharmacology 1974, 23, 2247-2256).

Auch PKSI-527, das Hydrochlorid von N-(trans-4-Aminomethylcyclohexylcarbonyl)-L-phenylalanin-4-carboxymethyl-anilid, ist ein wirksamer Inhibitor für diese Kininogenase (Wanaka, Ohamoto

15 et al., Thromb. Res. 1990, 57 (6), 889-895).

Thrombin gehört zur Gruppe der Serinproteasen und spielt als terminales Enzym in der Blutgerinnungskaskade eine zentrale Rolle. Sowohl die intrinsische als auch die extrinsische

20 Gerinnungskaskade führen über mehrere Verstärkungsstufen zur Entstehung von Thrombin aus Prothrombin. Die thrombinkatalysierte Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin leitet dann die Blutgerinnung und die Aggregation der Thrombozyten ein, die ihrerseits durch die Bindung von Plättchenfaktor 3 und Gerinnungsfaktor XIII sowie
25 eine ganze Reihe von hochaktiven Mediatoren die Thrombinbildung verstärken.

Thrombinbildung und -wirkung sind zentrale Ereignisse bei der Entstehung sowohl von weißen, arteriellen als auch von roten,

30 venösen Thromben und daher potentiell wirksame Angriffspunkte für Pharmaka. Thrombininhibitoren sind im Gegensatz zu Heparin in der Lage, unabhängig von Kofaktoren gleichzeitig die Wirkungen von freiem Thrombin als auch an Thrombozyten gebundenes vollständig zu hemmen. Sie können in der Akutphase thromboembolische
35 Ereignisse nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie (PTCA) und Lyse verhindern und als Antikoagulantien in der extrakorporalen Zirkulation (Herz-Lungen-Maschine, Hämodialyse) dienen. Sie können auch allgemein zur Thromboseprophylaxe, beispielsweise nach chirurgischen Eingriffen dienen.

40

Es ist bekannt, daß synthetische Argininderivate die Enzymaktivität des Thrombins beeinflussen, indem sie mit dem aktiven Serinrest der Protease Thrombin in Wechselwirkung treten. Peptide auf der Basis Phe-Pro-Arg, in denen die N-terminale Aminosäure

45 in der D-Form vorliegt, haben sich als besonders günstig erwiesen. D-Phe-Pro-Arg-isopropylester ist als kompetitiv wirkender

Thrombininhibitor beschrieben (C.Mattson u.a., Folia Haematol, 109, 43 bis 51, 1983).

Die Derivatisierung des C-Terminus Arginin zum Aldehyd führt zu einer Verstärkung der Inhibitorwirkung. So sind eine Vielzahl von Arginalen beschrieben, die die Hydroxylgruppe des "aktiven" Serins halbacetalisch zu binden vermögen (EP 185390, 479489, 526877, 542525; WO 93/15756, 93/18060).

- 10 Die thrombininhibitorische Wirksamkeit peptidischer Ketone, fluorierte Alkylketone, sowie von Ketoestern, Borsäurederivaten, Phosphorsäureestern und α -Ketocarbonsäureamiden ist ebenfalls mit dieser Serin-Wechselwirkung erklärbar (EP 118280, 195212, 362002, 364344, 410411, 471651, 589741, 293881, 503203, 504064, 530167; 15 WO 92/07869, 94/08941).

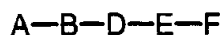
- Bei den von J. Oleksyszyn u.a. in J. Med. Chem. 37, 226 bis 231 (1994) beschriebenen peptidischen 4-Amidinophenyl-glycin-phosphonat-diphenylestern handelt es sich um irreversible 20 Thrombininhibitoren mit unzureichender Selektivität gegenüber anderen Serinproteasen.

- In DE 3 108 810, WO 93/11152 und EP 601 459 sind Agmatin und damit Arginin-Derivate beschrieben, die keine Wechselwirkung mit 25 dem aktiven Serin der Serinproteasen eingehen können.

WO 94/29336, EP 0 601 459 und WO 95/23609 stellen eine Weiterentwicklung dar, wobei der Agmatin- durch einen Arylamidinrest ersetzt ist.

- 30 In EP 0 672 658 ist neben Thrombininhibitoren, die einen Agmatin- oder Benzamidinrest tragen, auch ein Thrombininhibitor mit einem Amidinothiophen beschrieben (Beispiel 65).

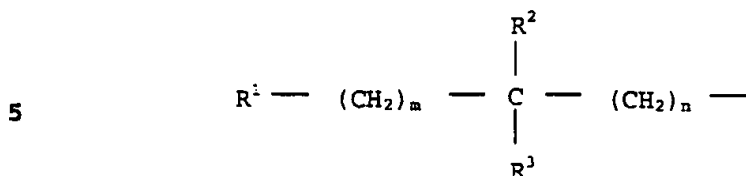
- 35 Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung der Verbindungen der Formel I



(I)

- 40 zur Herstellung von Arzneimitteln gegen Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kininogenasen, insbesondere Kallikrein beruht und
- 45 worin A, B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen und deren Verwendung als Kallikrein- bzw. Thrombininhibitoren:

A:



worin

10 m 0, 1, 2 oder 3,

n 0, 1 oder 2,

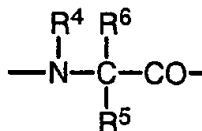
R¹ HOOC-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-, Aryl-C₀₋₄-Alkyl-OOC oder -OH,R² H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R¹-(CH₂)_m-,R³ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

15

darstellen,

B:

20



worin

25

R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R¹-(CH₂)_m- (wobei R¹ und m die oben angegebene Bedeutung besitzen),R⁶ -CH₂-(CR⁷R⁸)-W oder -(CR⁷R⁸)_q-W mit q = 0 oder 1 und W = H-, C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl-, 3-Thienyl-, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, HO-, BnO-, F- oder Cl- tragen kann,

30

C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann und/oder worin eine oder zwei C-C-Einfachbindungen im Ring durch eine C=C-Doppelbindung ersetzt sein können und/oder an welches ein Phenylring ankondensiert sein kann, C₇₋₁₂-Bicycloalkyl- oder C₁₀-Tricycloalkyl-, oder

35

R⁴ und R⁶ zusammen eine Butylengruppe oder eine

40

-(CH₂)_r-(CR¹²R⁸)_p-Gruppe mit r = 2 oder 3 und p = 0 oder 1 und R¹² = Cyclohexyl-, Phenyl-, R⁸ = H oder C₁₋₄-Alkyl,R⁵ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,R⁷ H, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-,

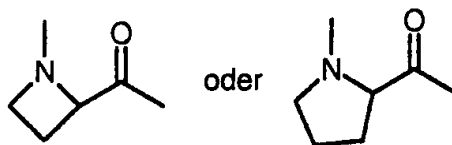
45

F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann,R⁸ H oder C₁₋₄-Alkyl-,

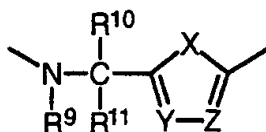
bedeuten,

D:

5



10 E:



15

worin

X S, O oder NH,

Y -N= oder -CH=,

20 Z -N= oder -CH= bedeuten,

und

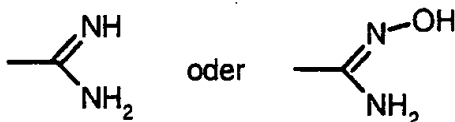
R⁹ H- oder C₁₋₃-Alkyl-,

25 R¹⁰ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

R¹¹ H- oder C₁₋₄-Alkyl- bedeuten,

F:

30



35 sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.

Die durch B dargestellten Aminosäurederivate sind vorzugsweise (D)-konfiguriert, Azetidincarbonsäure bzw. Prolin in D sind vorzugsweise (L)-konfiguriert.

40

Für die oben genannten Verwendungen sind die folgenden Verbindungen bevorzugt, besonders bevorzugt bzw. ganz besonders bevorzugt.

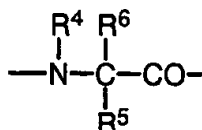
Bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, worin die Gruppen A, B,
45 D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

a)

- A: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_t-$, $\text{C}_{1-6}\text{-Alkyl-OOC}-(\text{CH}_2)_t-$, ($t = 1, 2$ oder 3),
 $(\text{HOOC-CH}_2)_2\text{-CH-}$, $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH(COOH)-}$, $\text{HOOC-CH(C}_{1-4}\text{-Alkyl)-}$,
 5 $\text{HOOC-C(C}_{1-4}\text{-Alkyl)}_2-$,

B:

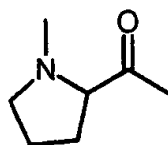
10



- R^4 H-, $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-}$, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-$ ($m = 1, 2$ oder 3),
 R^5 H-, Methyl-
 15 R^6 -W, $-\text{CH}_2-(\text{CR}^7\text{R}^8)\text{-W}$ mit $\text{W} = \text{C}_{1-8}\text{-Alkyl-}$, 2-Thienyl, 3-Thienyl,
 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-,
 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
 verschiedene Reste der Gruppe CH_3- , CF_3- , $\text{CH}_3\text{O-}$, HO- , BnO- , F-
 oder Cl- tragen kann, Cyclopentyl-, Cyclohexyl-, Cyclohep-
 20 tyl-, Cyclooctyl-, welche Cycloalkylreste bis zu vier Methyl-
 reste tragen können, Adamantyl-, Indanyl-, oder $-\text{CH}_2\text{-W}$ mit W
 $= \text{C}_{1-8}\text{-Alkyl-}$, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 3-Indolyl-, 4-Imidazol-
 yl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches
 25 bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe
 $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-}$, CF_3- , $\text{C}_{1-4}\text{-Alkoxy-}$, HO- , BnO- , F- oder Cl- tragen
 kann, Cyclopentyl-, Cycloheptyl-, Cyclooctyl-, welche Cyclo-
 alkylreste bis zu vier Methylreste tragen können, Adamantyl-,
 Indanyl-,
 30 R^7 H-, $\text{C}_{1-8}\text{-Alkyl-}$, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
 verschiedene Reste der Gruppe $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-}$, CF_3- , $\text{C}_{1-4}\text{-Alkoxy-}$,
 F- oder Cl- tragen kann, $\text{C}_{3-8}\text{-Cycloalkyl-}$, welches bis zu vier
 gleiche oder verschiedene $\text{C}_{1-4}\text{-Alkylreste}$ tragen kann,
 R^8 H- oder $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-}$,

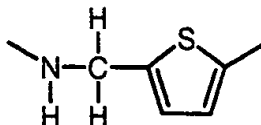
35 D:

40



E:

45



7

F:



5

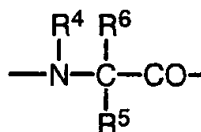
oder

β).

- 10 A: C₁₋₆-Alkyl-OOC-(CH₂)_t-, (t = 1, 2 oder 3), HOOC-(CH₂)₂-,
HOOC-(CH₂)₃-, (HOOC-CH₂)₂-CH-, HOOC-CH₂-CH(COOH)-, HOOC-
CH(C₁₋₄-Alkyl)-, HOOC-C(C₁₋₄-Alkyl)₂-,

B:

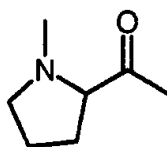
15



- 20 R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl-, HOOC-(CH₂)_m- (m = 1, 2 oder 3),
R⁵ H-, Methyl-
R⁶ -(CR⁷R⁸)-W mit W = Cyclohexyl-, welches bis zu vier Methylre-
ste tragen kann,
25 R⁷ H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-,
F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier
gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann,
R⁸ H- oder C₁₋₄-Alkyl,

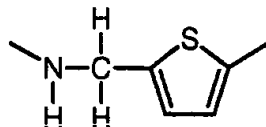
30

D:



35

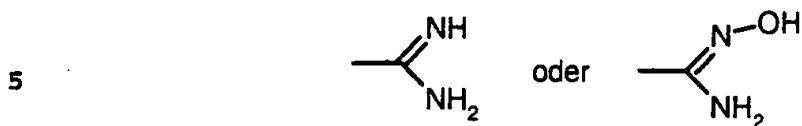
E:



40

45

F:



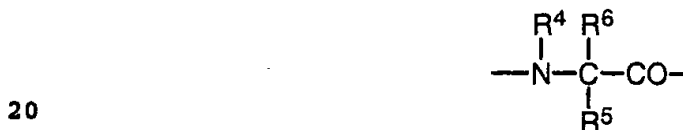
oder

γ)

10

A: HOOC-(CH₂)_t-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-(CH₂)_t-, (t = 1, 2 oder 3),
 (HOOC-CH₂)₂-CH-, HOOC-CH₂-CH(COOH)-, HOOC-CH(C₁₋₄-Alkyl)-,
 HOOC-C(C₁₋₄-Alkyl)₂-,

15 B:



R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl- oder HOOC-(CH₂)_m- (m = 1, 2 oder 3),

R⁵ H-, Methyl-,

25 R⁶ -CH₂-(CR⁷R⁸)-W oder -(CR⁷R⁸)_q-W mit q = 0 oder 1 und W = H-,
 C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl-, 3-Thienyl-, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-,
 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu
 drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-,
 CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, HO-, BnO-, F- oder Cl- tragen kann,

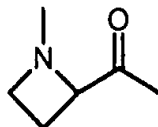
30 C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder ver-
 schiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann, Adamantyl-, Indanyl-,

30 R⁷ H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
 verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-,
 F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier
 gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste tragen kann,

35 R⁸ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

D:

40

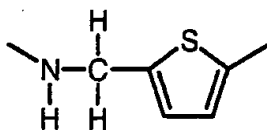


45

9

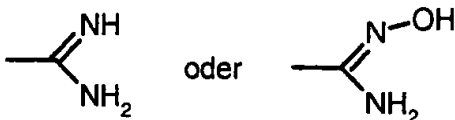
E:

5



F:

10



oder

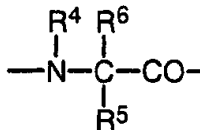
15 δ)

A: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_t-$ ($t = 1, 2$ oder 3), $(\text{HOOC}-\text{CH}_2)_2-\text{CH}-$,
 $\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{COOH})-$, $\text{HOOC}-\text{CH}(\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl})-$,
 $\text{HOOC}-\text{C}(\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl})_2-$, $\text{C}_{1-6}\text{-Alkyl}-\text{OOC}-(\text{CH}_2)_t-$,

20

B:

25



R^4 H-, $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl}-$ oder $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-$ ($m = 1, 2$ oder 3),

R^5 H-, Methyl-,

R^6 $-\text{CH}_2-(\text{CR}^7\text{R}^8)-\text{W}$ oder $-(\text{CR}^7\text{R}^8)_q-\text{W}$ mit $q = 0$ oder 1 und $\text{W} = \text{H}-$,
 30 $\text{C}_{1-8}\text{-Alkyl}-$, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-,
 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu
 drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl}-$,
 CF_3- , $\text{C}_{1-4}\text{-Alkoxy}-$, $\text{HO}-$, $\text{BnO}-$, F- oder Cl- tragen kann,

35 $\text{C}_{3-8}\text{-Cycloalkyl}-$, welches bis zu vier gleiche oder ver-
 schiedene $\text{C}_{1-4}\text{-Alkylreste}$ tragen kann, Adamantyl-, Indanyl-,

R^7 H-, $\text{C}_{1-8}\text{-Alkyl}-$, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
 verschiedene Reste der Gruppe $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl}-$, CF_3- , $\text{C}_{1-4}\text{-Alkoxy}-$,
 F- oder Cl- tragen kann, $\text{C}_{3-8}\text{-Cycloalkyl}-$, welches bis zu vier
 gleiche oder verschiedene $\text{C}_{1-4}\text{-Alkylreste}$ tragen kann,

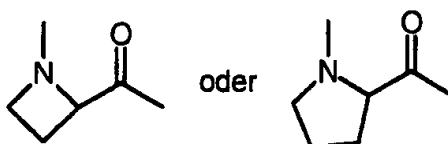
40 R^8 H- oder $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl}$,

45

10

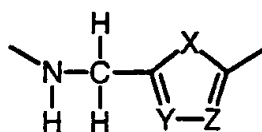
D:

5



E:

10



worin entweder

15

- a) im Fall von X = O oder NH,
 Y -N=, -CH= und
 Z -N=, -CH= bedeuten

20 oder

- b) im Fall von X = S,
 Y -N= und
 Z -N=, -CH= bedeuten

25 oder

- Y -CH= und
 Z -N= bedeuten

F:

30



35

sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.

Die durch B dargestellten Aminosäurederivate sind vorzugsweise
 (D)-konfiguriert, Azetidincarbonsäure bzw. Prolin in D sind vor-
 40 zugsweise (L)-konfiguriert.

Besonders bevorzugt sind Verbindungen der Formel I, in denen A,
 B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

45

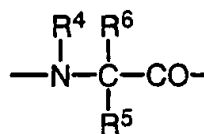
11

 α)

A: C_{1-2} -Alkyl-OOC-CH₂, HOOC-CH₂, HOOC-CH₂-CH₂, HOOC-CH(CH₃),
HOOC-CH(C₂H₅),

5 B:

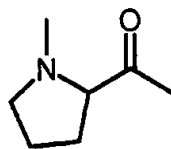
10

R⁴ H-, CH₃-R⁵ H-, CH₃-,

15 R⁶ -W oder -CH₂-(CR⁷R⁸)-W mit W = C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl,
3-Thienyl, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-,
4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder ver-
schiedene Reste der Gruppe CH₃-, CF₃-, CH₃O-, HO-, BnO-, F-
oder Cl- tragen kann, Cyclopentyl-, Cyclohexyl-, Cyclohept-
20 tyl-, welche bis zu vier Methylreste tragen können, oder
-(CR⁷R⁸)-W mit W = C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl, 3-Thienyl,
3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-,
4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder ver-
schiedene Reste der Gruppe CH₃-, CF₃-, CH₃O-, HO-, BnO-, F-
25 oder Cl- tragen kann, Cyclopentyl-, Cycloheptyl-, welche bis
zu vier Methylreste tragen können,

R⁷ H-, CH₃-,R⁸ H-, CH₃-,

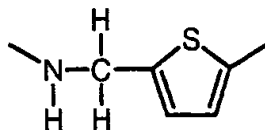
D:
30



35

E:

40

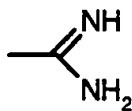


45

12

F:

5



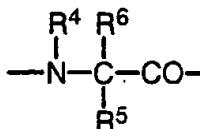
oder

β)

10 A: C₁₋₂-Alkyl-OOC-CH₂, HOOC-CH₂-CH₂, HOOC-CH(CH₃), HOOC-CH(C₂H₅),

B:

15



20 R⁴ H-, CH₃-

R⁵ H-, CH₃-,

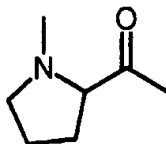
R⁶ -(CR⁷R⁸)-W mit W = Cyclohexyl-, welches bis zu vier Methylreste tragen kann,

R⁷ H, CH₃-,

25 R⁸ H, CH₃-,

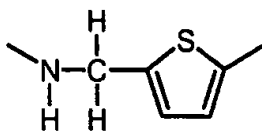
D:

30



E:

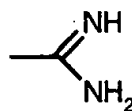
35



40

F:

45



oder

13

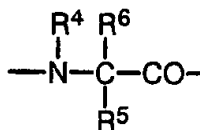
γ)

A: C₁₋₂-Alkyl-OOC-CH₂, HOOC-CH₂, HOOC-CH₂-CH₂, HOOC-CH(CH₃),
HOOC-CH(C₂H₅),

5

B:

10

R⁴ H-, CH₃-R⁵ H-, CH₃-,

15

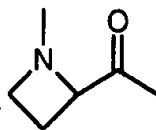
R⁶ -CH₂-(CR⁷R⁸)-W oder -(CR⁷R⁸)_q-W mit q = 0 oder 1 und W =
C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl-, 3-Thienyl-, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-,
2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu
drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe CH₃-, CF₃-,
CH₃O-, HO-, Bno-, F- oder Cl- tragen kann, C₅₋₇-Cycloalkyl-,
welches bis zu vier Methylreste tragen kann,

20

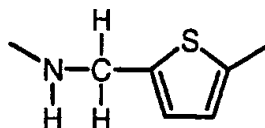
R⁷ H, CH₃-,R⁸ H, CH₃-,

D:

25



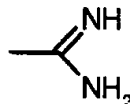
30 E:



35

F:

40



oder

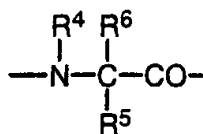
45

14

δ)

A: C₁₋₂-Alkyl-OOC-CH₂, HOOC-CH₂, HOOC-CH₂-CH₂, HOOC-CH(CH₃),
HOOC-CH(C₂H₅),

5 B:



10

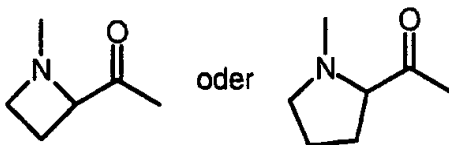
R⁴ H-, CH₃-R⁵ H-, CH₃-,R⁶ -CH₂-(CR⁷R⁸)-W oder -(CR⁷R⁸)_q-W mit q = 0 oder 1 und W =

15 C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl-, 3-Thienyl-, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-,
2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu
drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe CH₃-, CF₃-,
CH₃O-, HO-, BnO-, F- oder Cl- tragen kann, C₅₋₇-Cycloalkyl-,
welches bis zu vier Methylreste tragen kann,

20 R⁷ H, CH₃-,R⁸ H, CH₃-,

D:

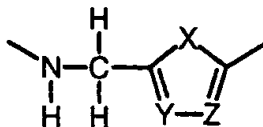
25



30

E:

35



worin

40 a) im Fall von X = O,

Y -CH= und

Z -CH= bedeuten

oder

b) im Fall von X = S

45 Y -N= und

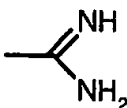
Z -N=, -CH= bedeuten

oder

Y -CH= und
Z -N=, bedeuten,

F:

5



10

sowie deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren.

Die durch B dargestellten Aminosäurederivate sind vorzugsweise (D)-konfiguriert, Azetidincarbonsäure bzw. Prolin in D sind vor-
15 zugsweise (L)-konfiguriert.

Außer den in den Beispielen genannten Substanzen sind folgende Substanzen sind ganz besonders bevorzugt:

- 20 MeOOC-CH₂-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-CH₂-(D)-Cha-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-(D)-HCha-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-(D)-HCha-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-(D)-Cheg-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
25 HOOC-CH₂-(D)-Chea-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
CH₃OOC-CH₂-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-(D)-Cog-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
CH₃OOC-CH₂-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-(D)-4-MeCha-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
30 HOOC-CH₂-(D)-Cha-Aze-NH-CH₂-5-(2-ham)-thioph
MeOOC-CH₂-(D)-Cha-Aze-NH-CH₂-5-(2-ham)-thioph
EtOOC-CH₂-(D)-Cha-Aze-NH-CH₂-5-(2-ham)-thioph
EtOOC-CH₂-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
EtOOC-CH₂-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
35 EtOOC-CH₂-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-(N-Me)-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thioph
HOOC-CH₂-CH₂-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thiaz
HOOC-CH₂-CH₂-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
40 HOOC-CH₂-(D)-HCha-Aze-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-HCha-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-Cha-Aze-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-Cheg-Aze-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
45 HOOC-CH₂-(D)-Chea-Aze-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-Cpg-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
HOOC-CH₂-(D)-Cheg-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz

16

- HOOC-CH₂-(D)-Cpa-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)-Chea-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 CH₃OOC-CH₂-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 CH₃OOC-CH₂-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
5 HOOC-CH₂-(D)-Cog-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)-4-MeCha-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(N-Me)-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-2-(5-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-thiaz
 HOOC-CH₂-CH₂-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-fur
10 HOOC-CH₂-(D)-Chea-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-fur
 HOOC-CH₂-(D)-Cpg-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-fur
 HOOC-CH₂-(D)-Cha-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-fur
 HOOC-CH₂-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-5-(2-am)-fur
 HOOC-CH₂-(D)-Chea-Pro-NH-CH₂-5-(2-am)-fur

15

Abkürzungsliste:

- | | | |
|-----------|---------|----------------------------|
| | Adaala: | Adamantylalanin |
| | Adagly: | Adamantylglycin |
| 20 | AIBN: | Azobisisobutyronitril |
| | Ac: | Acetyl |
| | am: | Amidino |
| | Aze: | Azetidincarbonsäure |
| | Bn: | Benzyl |
| 25 | Boc: | tert. Butyloxycarbonyl |
| | Bu: | Butyl |
| | Cbz: | Benzyloxycarbonyl |
| | Cha: | Cyclohexylalanin |
| | Chea: | Cycloheptylalanin |
| 30 | Cheg: | Cycloheptylglycin |
| | Chg: | Cyclohexylglycin |
| | Cog: | Cyclooctylglycin |
| | Cpa: | Cyclopentylalanin |
| | Cpg: | Cyclopentylglycin |
| 35 | d: | Dublett |
| | DC: | Dünnschichtchromatographie |
| | DCC: | Dicyclohexylcarbodiimid |
| | Dch: | Dicyclohexylalanin |
| | Dcha: | Dicyclohexylamin |
| 40 | DCM: | Dichlormethan |
| | DMF: | Dimethylformamid |
| | DIPEA: | Diisopropylethylamin |
| | Dpa: | Diphenylalanin |
| | Et: | Ethyl |
| 45 | Eq: | Äquivalente |
| | Gly: | Glycin |
| | ham: | Hydroxyamidino |

HCha	Homocyclohexylalanin, 2-Amino-4-cyclohexylbuttersäure
HOSucc:	Hydroxysuccinimid
HPLC:	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
imi:	Imidazol
5 iPr:	iso-Propyl
Leu:	Leucin
Lsg:	Lösung
m:	Multipllett
Me:	Methyl
10 α -MeCha:	α -Methylcyclohexylalanin
β, β -Me ₂ Cha:	2-Amino-3-cyclohexyl-3-methyl-buttersäure oder β, β -Dimethylcyclohexylalanin
4-MeCha:	(4-Methylcyclohex-1-yl)alanin
γ -MeCha:	(1-Methylcyclohex-1-yl)alanin
15 3,3-Me ₂ Cha:	(3,3-Dimethylcyclohex-1-yl)alanin
4-MeChg:	(4-Methylcyhex-1-yl)glycin
3,3-Me ₂ Chg:	(3,3-Dimethylcyclohex-1-yl)-glycin
MPLC:	Mitteldruckflüssigkeitschromatographie
MTBE:	Methyl-tert.-butyl-ether
20 NBS:	N-Bromsuccinimid
Nog:	Norbornylglycin
Oxaz:	Oxazol
Ph:	Phenyl
Phe:	Phenylalanin
25 PPA:	Propylphosphonsäureanhydrid
Pro:	Prolin
Py:	Pyridin
Pyr:	3,4-Dehydroprolin
pyraz:	Pyrazol
30 pyrr:	Pyrrol
q:	Quartett
RT:	Raumtemperatur
s:	Singulett
sb:	Singulett breit
35 t:	Triplett
t:	tertiär
tBu:	tertiär-Butyl
tert:	tertiär
TBAB:	Tetrabutylammoniumbromid
40 TEA:	Triethylamin
TFA:	Trifluoressigsäure
TFAA:	Trifluoressigsäureanhydrid
thiaz:	Thiazol
thioph:	Thiophen
45 Z:	Benzyloxycarbonyl

18

In der Beschreibung und den Ansprüchen gelten für die einzelnen Substituenten folgende Definitionen:

Der Term "Cycloalkyl" für sich oder als Teil eines anderen

- 5 Substituenten beinhaltet gesättigte oder cyclische Kohlenwasserstoffgruppen, die die angegebene Anzahl von Kohlenstoffatomen enthalten.

C₃₋₈-Cycloalkyl bezieht sich auf gesättigte alicyclische Ringe mit

- 10 3 bis 8 C-Atomen wie z.B. Cyclopropyl, Cyclobutyl, Cyclopentyl, Cyclohexyl, 4-Methyl-cyclohexyl, Cycloheptyl oder Cyclooctyl,

Der Term "Alkyl" für sich oder als Teil eines anderen Substituenten bedeutet ein lineares oder verzweigtes Alkylketten-Radikal

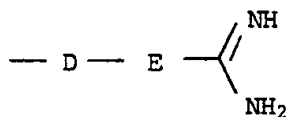
- 15 der jeweils angegebenen Länge. So bedeuten C₁₋₄-Alkyl z.B. Methyl, Ethyl, 1-Propyl, 2-Propyl, 2-Methyl-2-propyl, 2-Methyl-1-propyl, 1-Butyl, 2-Butyl; C₁₋₆-Alkyl z.B. C₁₋₄-Alkyl, Pentyl, 1-Pentyl, 2-Pentyl, 3-Pentyl, 1-Hexyl, 2-Hexyl, 3-Hexyl, 4-Methyl-1-pentyl oder 3,3-Dimethyl-butyl; C₁₋₈-Alkyl z.B. C₁₋₆-Alkyl, Heptyl oder
20 Octyl.

Der Term "Alkoxy" für sich oder als Teil eines anderen

Substituenten bedeutet ein lineares oder verzweigtes Alkylketten-Radikal, das die jeweils angegebene Länge hat und über ein Sauerstoffatom an die jeweilige Stammverbindung gebunden ist. So bedeutet C₁₋₄-Alkoxy z.B. Methoxy, Ethoxy, 1-Propoxy, 2-Propoxy, 2-Methyl-2-propoxy, 2-Methyl-1-propoxy, 1-Butoxy, 2-Butoxy.

Gegenstand der Erfindung sind weiter Verbindungen, die das

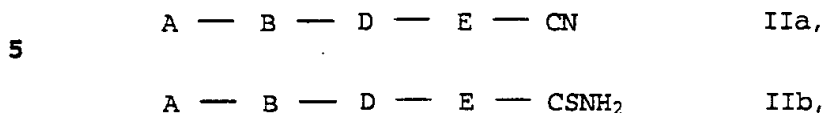
- 30 Strukturelement



- 35 enthalten, worin D und E die oben angegebene Bedeutung besitzen und sich am Stickstoffatom von Baustein D ein Wasserstoffatom, eine Schutzgruppe, eine gegebenenfalls substituierte natürliche oder unnatürliche Aminosäure, eine gegebenenfalls substituierte Carbonsäure oder ein gegebenenfalls substituierter Alkyl-
40 rest befindet. Das Strukturfragment ist als Bestandteil von Serinprotease-Inhibitoren und insbesondere von Thrombin- und Kallikreininhibitoren wertvoll.

19

Gegenstand der Erfindung sind weiter die Zwischenprodukte der Formeln IIa und IIb



worin A, B, D und E die oben angegebene Bedeutung besitzen.

10

Die neuen Zwischenprodukte dienen zur Herstellung der Verbindungen I und sind wertvolle Bausteine für die Synthese von Serinprotease-Inhibitoren.

- 15 Die Verbindungen der Formel I können als solche oder in Form ihrer Salze mit physiologisch verträglichen Säuren vorliegen. Beispiele für solche Säuren sind: Salzsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Methansulfonsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Bernsteinsäure, Hydroxy-
20 bernsteinsäure, Schwefelsäure, Glutarsäure, Asparaginsäure, Brenztraubensäure, Benzoesäure, Glucuronsäure, Oxalsäure, Ascorbinsäure und Acetylglycin.

- Ist in den Verbindungen der Formel I R¹ gleich C₁₋₆-AlkylOOC,
25 Aryl C₀₋₄-alkylOOC und/oder F gleich Hydroxyamidin, so können diese Verbindungen in vivo als Prodrugs wirken, aus welchen auf enzymatischem Weg die entsprechenden Carbonsäure R¹ = HOOC- bzw. die entsprechenden Amidine (F = C(=NH)NH₂) entstehen.

- 30 Weiterhin werden als Prodrugs der Verbindungen der allgemeinen Formel I solche Verbindungen angesehen, die in vivo in pharmakologisch aktive Verbindungen der allgemeinen Formel I umgesetzt werden. Der in vivo Metabolismus kann z.B. in der Leber beim "first pass" Stoffwechsel stattfinden.

35

Gegenstand der Erfindung sind außerdem Verbindungen und Arzneimittel der allgemeinen Formel I, wobei I jedoch nicht (N-(Carboxy(CH₂)_n)-D-cyclohexylalanyl-N[[5-aminoiminomethyl]thiophen-2-yl]methyl]-L-prolinamid, mit n = 1, 2 oder 3, sein darf.

40

Die Verbindungen der Formel I sind kompetitive Inhibitoren von Trypsin-ähnlichen Serinproteasen, besonders Thrombin und Kininogenasen wie Kallikrein. Sie lassen sich bei folgenden Indikationen einsetzen:

45

20

- Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Thrombin beruht,
- 5 - Krankheiten, deren Pathomechanismus auf der thrombin-abhängigen Aktivierung von Rezeptoren und Signaltransduktionen beruht,
- 10 - Krankheiten, die mit Stimulation [z.B. durch PAI-1, PDGF (platelet derived growth factor), P-Selectin, ICAM-1, Tissue Factor] oder Inhibition (z.B. NO-Synthese in Glattmuskelzellen) von Genexpressionen in Körperzellen einhergehen,
- Krankheiten, die auf der mitogenen Wirkung von Thrombin beruhen,
- 15 - Krankheiten, die auf einer thrombinabhängigen Kontraktilitäts- und Permeabilitätsveränderung von Epithelzellen (z.B. Gefäßendothelzellen) beruhen,
- 20 - thrombinabhängige, thromboembolische Ereignisse wie tiefe Venenthrombose, Lungenembolie, Myocard- oder Cerebralinfarkt, Vorhofflimmern, Bypassverschluß,
- disseminierte intravasale Koagulation (DIC),
- 25 - Reokklusion und zur Verkürzung der Reperusionszeit bei Komedikation mit Thrombolytika wie Streptokinase, Urokinase, Prourokinase, t-PA, APSAC, Plasminogenaktivatoren aus den Speicheldrüsen von Tieren sowie die rekombinanten und
- 30 mutierten Formen all dieser Substanzen,
- das Auftreten von früher Reokklusion und später Restenosierung nach PTCA,
- 35 - die thrombinabhängige Proliferation von Glattmuskelzellen,
- die Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS (z.B. bei M. Alzheimer),
- 40 - das Tumorwachstum sowie gegen die Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen.

Insbesondere lassen sich die neuen Verbindungen zur Therapie und Prophylaxe von thrombinabhängigen thromboembolischen Ereignissen

45 wie tiefen Venenthrombosen, Lungenembolien, Myocard- oder Cerebralinfarkten und instabiler Angina, weiterhin zur Therapie der Disseminierten Intravasalen Koagulation (DIC) einsetzen. Weiter

21

eignen sie sich zur Kombinationstherapie mit Thrombolytika wie Streptokinase, Urokinase, Prourokinase, t-PA, APSAC und anderen Plasminogenaktivatoren zur Verkürzung der Reperfusionszeit und Verlängerung der Reokklusionszeit.

5

Weitere bevorzugte Anwendungsgebiete sind die Verhinderung thrombinabhängiger früher Reokklusion und später Restenosierung nach perkutaner transluminaler koronarer Angioplastie, die Verhinderung thrombininduzierter Proliferation glatter Muskelzellen, die Ver-

10 hinderung der Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS (z.B. bei M. Alzheimer), die Tumorbekämpfung und die Verhinderung von Mechanismen, die zu Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen führen.

15 Die neuen Verbindungen lassen sich auch zur Beschichtung von künstlichen Oberflächen wie Hämodialysemembranen und den dazu erforderlichen Schlauchsystemen und Leitungen sowie von Oxygenatoren der extravasalen Zirkulation, Stents und Herzklappen verwenden.

20

Die neuen Verbindungen lassen sich weiter bei Krankheiten einsetzen, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kininogenasen, insbesondere Kallikrein beruht z.B. bei Entzündungskrankheiten wie Asthma,

25 Pankreatitis, Rhinitis, Arthritis, Urticaria und anderen inneren Entzündungskrankheiten.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können in üblicher Weise oral oder parenteral (subkutan, intravenös, intramuskulär, intra-

30 peritoneal, rektal) verabfolgt werden. Die Applikation kann auch mit Dämpfen oder Sprays durch den Nasen-Rachenraum erfolgen.

Die Dosierung hängt vom Alter, Zustand und Gewicht des Patienten sowie von der Applikationsart ab. In der Regel beträgt die täg-

35 liche Wirkstoffdosis pro Person zwischen etwa 10 und 2000 mg bei oraler Gabe und zwischen etwa 1 und 200 mg bei parenteraler Gabe. Diese Dosis kann in 2 bis 4 Einzeldosen oder einmalig am Tag als Depotform gegeben werden.

40 Die neuen Verbindungen können in den gebräuchlichen galenischen Applikationsformen fest oder flüssig angewendet werden, z.B. als Tabletten, Filmtabletten, Kapseln, Pulver, Granulate, Dragees, Suppositorien, Lösungen, Salben, Cremes oder Sprays. Diese werden in üblicher Weise hergestellt. Die Wirkstoffe können dabei mit

45 den üblichen galenischen Hilfsmitteln wie Tablettenbindern, Füllstoffen, Konservierungsmitteln, Tablettensprengmitteln, Fließregulierungsmitteln, Weichmachern, Netzmitteln, Dispergierungsmitteln,

22

Emulgatoren, Lösungsmitteln, Retardierungsmitteln, Antioxidantien und/oder Treibgasen verarbeitet werden (vgl. H. Sucker et al.: Pharmazeutische Technologie, Thieme-Verlag, Stuttgart, 1978). Die so erhaltenen Applikationsformen enthalten den Wirkstoff normalerweise in einer Menge von 0,1 bis 99 Gew.-%.

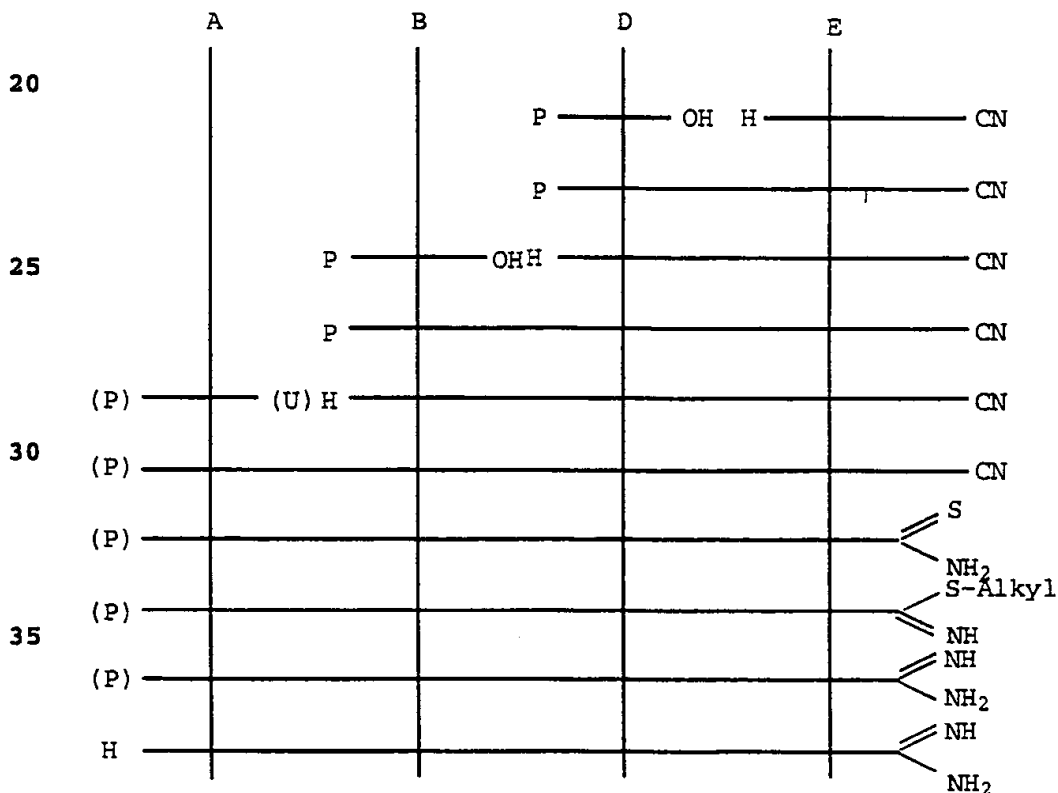
Experimenteller Teil

Die Verbindungen der Formel I lassen sich entsprechend Schema I-III darstellen.

Die Bausteine A, B, D und E werden vorzugsweise vorher separat aufgebaut und in geeignet geschützter Form (siehe Schema I-III) eingesetzt.

15

Schema I



(P = Schutzgruppe, (P) = Schutzgruppe oder H)

Schema I beschreibt den linearen Aufbau des Moleküls I durch Kupplung des Amins H-E-CN mit der N-geschützten Aminosäure P-D-OH zu P-D-E-CN, Abspaltung der N-terminalen Schutzgruppe zu H-D-E-CN, Kupplung mit der N-geschützten Aminosäure P-B-OH zu P-B-D-E-CN, Abspaltung der Schutzgruppe P zu H-B-D-E-CN, an-

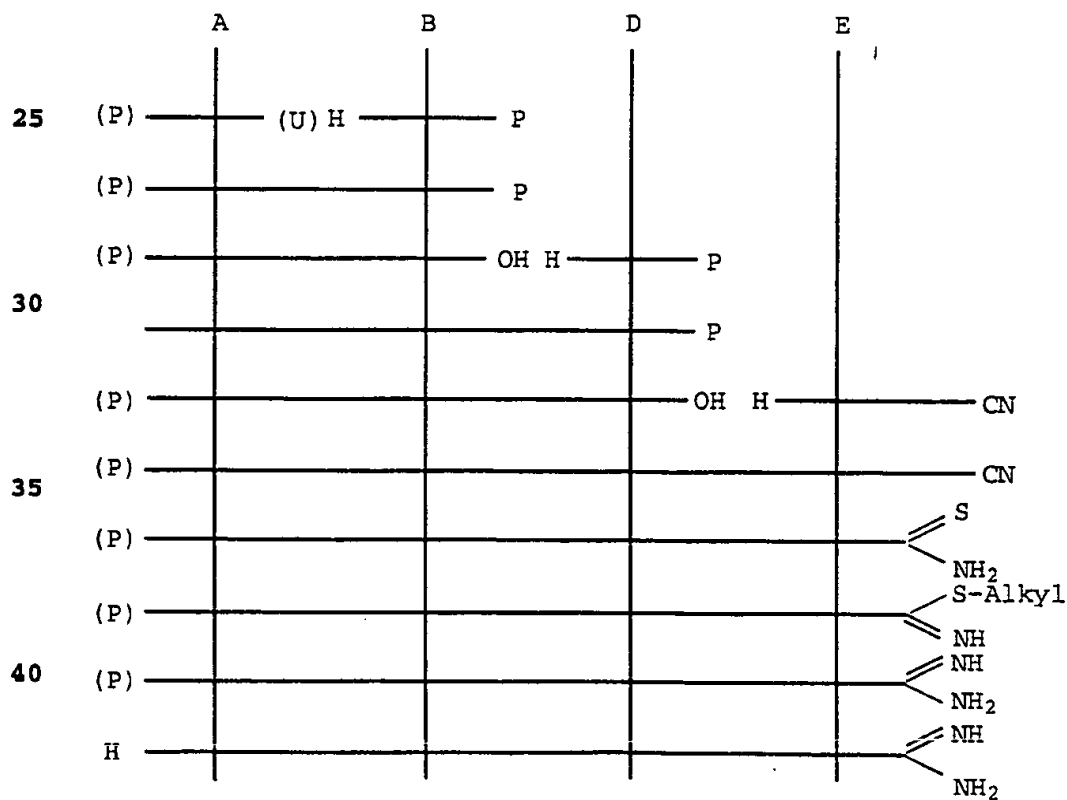
23

schließende Alkylierung mit dem gegebenenfalls geschützten (P)-A-U-Baustein (U = Abgangsgruppe) oder reduktive Alkylierung mit (P)-A'-U (U = Aldehyd, Keton) oder Michael-Addition mit einem geeigneten (P)-A''-C=C-Derivat zu (P)-A-B-D-E-CN. Die Umwandlung
 5 der Nitrilfunktion in die Amidgruppe erfolgt entweder über die klassische Pinner-Synthese (R. Boder, D.G. Neilson, Chem. Rev. 1962, 61, 179) oder über eine modifizierte Pinner-Synthese, die über Iminothioestersalze als Zwischenstufe abläuft (H. Vieweg et al., Pharmazie 1984, 39, 226) oder direkt nach der Methode von
 10 A. Eschenmoser Helv. Chimica Acta 69 (1986) 1224. Anschließend werden im Molekül noch vorhandene Schutzgruppen vorzugsweise durch saure Hydrolyse abgespalten.

Wird der Baustein E nicht als H-E-CN, sondern als H-E-CONH₂ in
 15 der Synthese eingebaut, so erfolgt auf einer der geschützten Zwischenstufen die Dehydratisierung der Amid- zur Nitrilfunktion oder die Umwandlung in die Thioamidfunktion mittels Lawesson's Reagenz. Alternativ dazu kann der Baustein E als H-E-CSNH₂ in die Synthese eingesetzt werden.

20

Schema II



45

24

Schema II beschreibt den linearen Aufbau des Moleküls I durch Alkylierung, reduktive Aminierung oder Michael-Addition von H-B-P an entsprechend geeignete gegebenenfalls geschützte A-Bausteine zu (P)-A-B-P, Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe zu

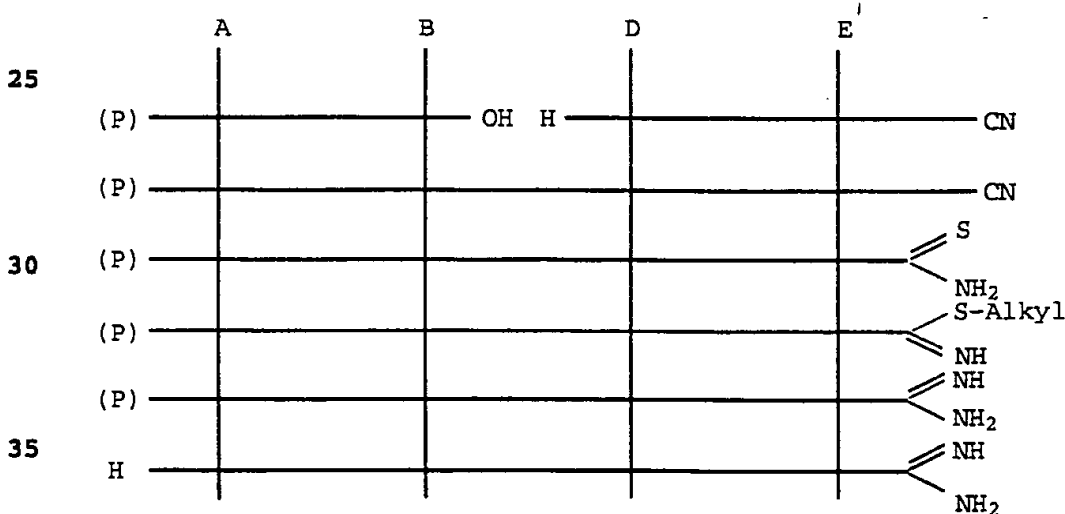
- 5 (P)-A-B-OH, Kupplung mit H-D-P zu (P)-A-B-D-P, Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe zu (P)-A-B-D-OH, Kupplung mit H-E-CN zu (P)-A-B-D-E-CN und Umsetzung dieses Zwischenprodukts zum Endprodukt analog Schema I.

- 10 Bei Verbindungen (P)-A-B-P mit noch freier NH-Funktion an B muß diese vor Abspaltung der C-terminalen Schutzgruppe noch mit einer geeigneten Schutzgruppe versehen werden. Die jeweils verwendeten Schutzgruppen müssen orthogonal zueinander sein.

- 15 Alternativ zum H-E-CN-Baustein kann auch H-E-CONH₂, H-E-CSNH₂, H-E-C(NH)NH₂, H-E-C(NP)NH₂, H-E-C(NP)NHP eingesetzt werden, wobei im ersten Fall das gekoppelte Zwischenprodukt (P)-A-B-D-E-CONH₂ zu (P)-A-B-D-E-CN dehydratisiert oder mittels Lawesson Reagenz in (P)-A-B-D-E-CSNH₂ überführt wird.

20

Schema III



- 40 Schema III beschreibt einen sehr effizienten Weg zur Darstellung der Verbindungen I durch eine konvergente Synthese. Die entsprechend geschützten Bausteine (P)-A-B-OH und H-D-E-CN werden miteinander gekuppelt und das entstandene Zwischenprodukt (P)-A-B-D-E-CN analog Schema I zum Endprodukt umgesetzt.

45

25

Alternativ zu H-D-E-CN kann auch H-D-E-CONH₂ oder H-D-E-CSNH₂ eingesetzt werden, wobei im ersten Fall das gekoppelte Zwischenprodukt (P)-A-B-D-E-CONH₂ zu (P)-A-B-D-E-CN dehydratisiert oder in (P)-A-B-D-E-CSNH₂ überführt wird.

5

Als N-terminale Schutzgruppen werden Boc, Cbz oder Fmoc, vorzugsweise Boc eingesetzt, C-terminale Schutzgruppen sind Methyl, tert.-Butyl und Benzyl. Sind mehrere Schutzgruppen im Molekül vorhanden, so müssen diese orthogonal zueinander sein, wenn sie
10 nicht gleichzeitig abgespalten werden sollen.

Die erforderlichen Kupplungsreaktionen sowie die üblichen Reaktionen der Schutzgruppeneinführung und -abspaltung werden nach Standardbedingungen der Peptidchemie durchgeführt (siehe
15 M. Bodanszky, A. Bodanszky "The Practice of Peptide Synthesis", 2. Auflage, Springer Verlag Heidelberg, 1994).

Boc-Schutzgruppen werden mittels Dioxan/HCl oder TFA/DCM, Cbz-Schutzgruppen hydrogenolytisch oder mit HF abgespalten. Die Ver-
20 seifung von Esterfunktionen erfolgt mit LiOH oder NaOH in einem alkoholischen Lösungsmittel oder in Dioxan/Wasser. t-Butylester werden mit TFA oder HCl gespalten.

Die Reaktionen wurden mittels DC kontrolliert, wobei üblicher-
25 weise folgende Laufmittel benutzt wurden:

- | | | |
|-------|---------------------|---------|
| A. | DCM/MeOH | 95:5 |
| B. | DCM/MeOH | 9:1 |
| C. | DCM/MeOH | 8:2 |
| 30 D. | DCM/MeOH/50%ig HOAc | 40:10:5 |
| E. | DCM/MeOH/50%ig HOAc | 35:15:5 |

Sofern säulenchromatographische Trennungen erwähnt werden, waren dies Trennungen über Kieselgel, für die die oben genannten Lauf-
35 mittel verwendet wurden.

Reversed phase HPLC Trennungen wurden mit Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer durchgeführt.

40 Sämtliche Reaktionen wurden routinemäßig unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt.

45

Die Ausgangsverbindungen lassen sich nach folgenden Methoden herstellen:

Als Bausteine A werden für die Alkylierung z.B. α -Bromessigsäure-
15 tert.-butylester, β -Brompropionsäure-tert.-butylester, α -Brompropionsäure-tert.-butylester, γ -Brombuttersäure-tert.-butylester, α -Brombuttersäure-tert.-butylester, THP-geschütztes Bromethanol, THP-geschütztes γ -Brompropanol, für die reduktive Aminierung z.B. Dihydroxyaceton, Acetondicarbonsäuredi-tert.-butylester und für
10 die Michael-Addition z.B. Acrylsäure-tert.-butylester, Methacrylsäure-tert.-butylester, Fumarsäure-di-tert.-butylester, eingesetzt. Die genannten tert.-Butylester werden, soweit sie nicht käuflich zu erwerben sind, analog G. Uray, W. Lindner, Tetrahedron 1988, 44, 4357-4362 hergestellt.

15

B-Bausteine:

Für die allgemeine und spezielle Synthese von Aminosäuren stehen in der Literatur vielfältige Möglichkeiten zur Verfügung. Eine
20 Übersicht hierzu bietet u.a. Band E16d/Teil 1 - Houben-Weyl, S. 406 ff.

Häufig eingesetzte Edukte waren Benzophenoniminessigsäureethylester, Acetamidomalonsäurediethylester und Isonitrileessigsäure-
25 ethylester.

Die Darstellung verschiedener racemischer Glycin-und Alaninderivate erfolgte z.B. ausgehend von Isonitrileessigsäureethylester und einem entsprechenden Keton bzw. Aldehyd (siehe H.-J.
30 Prätorius, J. Flossdorf, M.-R. Kula Chem. Ber. 1975, 108, 3079).

Die Synthesen von Cyclooctylglycin, Cycloheptylglycin, 2-Norbornylglycin, Adamantylalanin, γ -Methylcyclohexylalanin, 4-Isopropylcyclohex-1-yl-alanin, 4-Methylcyclohex-1-yl-alanin, 4-Methyl-
35 cyclohex-1-ylglycin, Cycloheptylalanin und Cyclopentylalanin wurden über die entsprechenden 2-Formylamino-acrylsäureethylester (U. Schöllkopf und R. Meyer, Liebigs Ann. Chem. 1977, 1174 bzw. H.-J. Prätorius, J. Flossdorf, M.Kula, Chem. Ber. 1985, 108, 3079) ausgehend von Isocyanessigsäureethylester mit den
40 jeweiligen Carbonylverbindungen Cyclooctanon, Cycloheptanon, 2-Norbornanon, 1-Formyladamantan, 1-Formyl-1-methyl-cyclohexan, 1-Formyl-4-isopropyl-cyclohexan, 1-Formyl-4-methyl-cyclohexan, 4-Methylcyclohexanon, Formylcycloheptan und Formylcyclopentan nach folgenden allgemeinen Vorschriften durchgeführt:

45

27

Allgemeine Arbeitsvorschrift zur Synthese der 2-Formylamino-acrylsäureethylester:

- Zu 100 mmol Kalium-tert.-butylat in 150 mL THF tropfte man bei 0
5 bis -10°C die Lösung von 100 mmol Isocyanessigsäureethylester in
50 mL THF. Nach 15 min fügte man bei gleicher Temperatur 100 mmol
der entsprechenden Carbonylverbindung in 50 mL THF zu, ließ die
Reaktionsmischung langsam auf RT ansteigen und zog das Lösungs-
mittel am Rotationsverdampfer ab. Der Rückstand wurde mit 50 mL
10 Wasser, 100 mL Essigsäure und 100 mL DCM vermischt und das
Produkt mit DCM extrahiert. Die DCM-Phase wurde über Na₂SO₄ ge-
trocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer abgezogen.
Die fast rein anfallenden Produkte konnten im Bedarfsfall säulen-
chromatographisch über Kieselgel (Laufmittel: Gemische aus Ether/
15 Petrolether) weiter gereinigt werden.

Allgemeine Vorschrift der Aminosäurehydrochloride ausgehend von
den 2-Formylamino-acrylsäureethylestern:

- 20 100 mmol der 2-Formylamino-acrylsäureethylester wurden mit Pd/C
(10 %)-Wasserstoff in 200 mL Eisessig bis zur vollständigen
Umsetzung hydriert. Dann wurde der Katalysator abfiltriert, die
Essigsäure so weit wie möglich am Rotationsverdampfer abgezogen
und der Rückstand in 200 mL halbkonzentrierter Salzsäure 5 h zum
25 Rückfluß erhitzt. Man zog die Salzsäure am Rotationsverdampfer
ab, trocknete das Produkt bei 50°C im Vakuum und wusch mehrmals
mit Ether nach. Die Hydrochloride fielen als schwach gefärbte
Kristalle an.
- 30 Ausgehend von 18,9 g (150 mmol) Cyclooctanon erhielt man 25,0 g
Cyclooctylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 22,4 g (200 mmol
Cycloheptanon erhielt man 36,2 g Cycloheptylglycin-hydrochlorid.
Ausgehend von 16,5 g (150 mmol) 2-Norbornanon erhielt man 26,6 g
2-Norbonylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 19,7 g (120 mmol)
35 1-Formyladamantan erhielt man 26,0 g Adamantylalanin-hydroch-
lorid. Ausgehend von 12,6 g (100 mmol) 1-Formyl-1-methyl-cyclo-
hexan erhielt man 16,6 g γ-Methylcyclohexylalanin-hydrochlorid.
Ausgehend von 16,8 g (150 mmol) 4-Methylcyclohexanon erhielt man
25,9 g 4-Methylcyclohexylglycin-hydrochlorid. Ausgehend von 15 g
40 trans-1-Formyl-4-methylcyclohexan erhielt man 18 g trans-4-
Methylcyclohex-1-yl-alanin-hydrochlorid. Ausgehend von 9 g
3,3-Dimethyl-1-formylcyclohexan erhielt man 10 g 3,3-Dimethyl-
cyclohex-1-yl-alaninhydrochlorid.

Der für die Synthese benötigte Aldehyd, 1-Formyl-3,3-dimethylcyclohexan, wurde in Anlehnung an Moskal und Lensen (Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 1987, 106, 137-141) dargestellt:

- 5 Eine Lösung von n-Butyllithium in n-Hexan (72 mL, 115 mmol) wurde innerhalb von 10 min bei -60°C zu einer gerührten Lösung von Diethylisocyanomethylphosphonat (17 mL, 105 mmol) in 280 mL wasserfreiem Diethylether getropft. Die entstandene Suspension wurde 15 min bei -60°C nachgerührt und innerhalb von 10 min mit
- 10 einer Lösung von 3,3-Dimethylcyclohexanon (13 g, 105 mmol) in 100 mL wasserfreiem Diethylether versetzt, wobei die Temperatur unter -45°C gehalten wurde. Man ließ das Reaktionsgemisch auf 0°C kommen, rührte 90 min bei dieser Temperatur und gab vorsichtig 150-200 mL 38 %ige wäßrige Salzsäure hinzu. Zur vollständigen
- 15 Hydrolyse wurde 15 h lang bei RT heftig gerührt. Man trennte die organische Phase ab, wusch sie mit je 200 mL Wasser, gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung und gesättigter Natriumchlorid-Lösung. Man trocknete über Magnesiumsulfat, filtrierte ab und engte am Rotationsverdampfer ein, um die Lösungsmittel zu ent-
- 20 fernen. Der erhaltene Rückstand wurde ohne weitere Reinigung als Ausgangsmaterial für die Synthese der Aminosäure eingesetzt.

- Die Darstellung von Cyclopentylglycin erfolgte durch Hydrolyse mit 6N Salzsäure von N-Acetyl-(D,L)-cyclopentylglycin, welches
- 25 entsprechend der Literaturvorschrift von J.T. Hill und F.W. Dunn, J. Org. Chem. (1965), 30, 1321 hergestellt wurde.

Boc-(D)- α -Methyl-cyclohexylalanin

- 3,4 g (12,2 mmol) Boc-(D)- α -Methyl-Phe-OH wurden in 100 mL MeOH bei 50°C in Gegenwart von 250 mg 5-%igem Rh auf Al₂O₃ 24 h bei
- 30 10 bar mit Wasserstoff hydriert. Man erhielt nach Filtration und Abziehen des Lösungsmittels 2,8 g Boc-(D)- α -Methyl-Cha-OH.
- ¹H-NMR (DMSO-d₆, δ in ppm): 12 (sehr breites Signal, COOH); 1,7-0,8 (25 H); 1,35 (s, Boc); 1,30 (s, Me).

- 35 Boc-(3-Ph)-Pro-OH wurde analog einer Vorschrift von J.Y.L. Chung et al. (J.Y.L. Chung et al. J.Org.Chem. 1990, 55, 270) synthetisiert.

Darstellung von Boc-1-Tetralinylglycin:

- 40 Boc-1-Tetralinylglycin wurde ausgehend von 1,2-Dihydronaphthalin dargestellt. 1,2-Dihydronaphthalin wurde zunächst mit HBr in 1-Tetralylbromid überführt (analog J. Med. Chem 1994, 37, 1586). Anschließend wurde das Bromid mit Acetamidomalonsäurediethylester
- 45 umgesetzt, hydrolytisch gespalten und die erhaltene α -Aminosäure unter Standardbedingungen in die Boc geschützte Form überführt. Eine weitere Darstellungsmöglichkeit wird von E. Reimann und

29

D. Voss beschrieben (E. Reimann; D. Voss Arch. Pharm 1977, 310, 102).

Darstellung von Boc-(D,L)Dch-OH:

5

Boc-(D,L)-Dpa-OH (1 mmol) wurde in 12 mL MeOH zusammen mit katalytischen Mengen von 5 % Rh/Al₂O₃ bei 5 bar hydriert. Nach Filtration und Entfernen des Solvens im Vakuum erhielt man das Produkt in quantitativer Ausbeute.

10

Darstellung von H-(D,L)-Chea-OH:

4,0 g Cycloheptylmethylmethansulfonat (19,39 mmol), hergestellt aus Cycloheptylmethanol und Methansulfonsäurechlorid, wurden
15 zusammen mit 4,9 g Benzophenoniminyglycinethylester (18,47 mmol), 8,9 g trockenem fein gepulvertem Kaliumcarbonat (64,65 mmol) und 1 g Tetrabutylammoniumbromid (3 mmol) in 50 mL trockenem Acetonitril 10 h in Inertgasatmosphäre auf Rückfluß erhitzt. Danach wurde das Kaliumcarbonat abfiltriert, das Filtrat zur Trockene
20 eingedampft, und das Rohprodukt direkt mit 20 mL 2N Salzsäure in 40 mL Ethanol 1,5 h unter Rühren bei RT hydrolisiert. Nach Verdünnen der Reaktionslösung wurde mit Essigester im sauren Bereich Benzophenon extrahiert, anschließend im alkalischen Bereich (pH = 9) H-D,L-Chea-OEt mit DCM extrahiert, die Lösung über Magnesium-
25 sulfat getrocknet und einrotiert. Ausbeute 3,7 g \approx 95 % der Theorie.

Die Darstellung von Boc-(D,L)-(3,4,5-(MeO)₃)Phe-OH erfolgte durch Alkylierung von Benzophenoniminyglycinethylester mit Trimethoxy-
30 benzylchlorid, anschließender Boc-Schutzgruppeneinführung und Esterverseifung.

Die Darstellung von H-(D,L)- β,β -Me₂Cha-OH erfolgte nach U. Schöllkopf, R. Meyer, L. Ann. Chem. 1977, 1174-82.

35

Die genannten Aminosäuren wurden nach allgemein bekannten Verfahren mit Di-tert.-butyl-dicarbonat in Wasser/Dioxan in die jeweils Boc-geschützte Form überführt und anschließend aus Essigester/Hexan-Gemischen umkristallisiert oder säulenchromato-
40 graphisch über Kieselgel (Laufmittel: Essigester/Petrolether-Gemische) gereinigt.

Die Boc-geschützten Aminosäuren wurden als B-Bausteine entsprechend Schema I eingesetzt.

45

30

Die genannten Aminosäuren wurden als B-Bausteine teilweise auch in die entsprechenden Benzylester überführt und mit den entsprechend geschützten A-Bausteinen verknüpft. Bei Verbindungen mit noch freier N-H-Funktion wurde diese anschließend mit einer

5 Boc-Gruppe geschützt, die Benzylestergruppe abhydriert und der Baustein A-B-OH durch Kristallisation, Salzfällung bzw. Säulenchromatographie gereinigt. Dieser Weg ist exemplarisch für $t\text{BuOOC-CH}_2\text{-(Boc)-(D)Cha-OH}$ nachfolgend beschrieben.

10 Synthese von (D)-Cyclohexylalaninbenzylester:

Eine Suspension von 100 g (481 mmol) (D)-Cyclohexylalanin-hydrochlorid, 104 g (962 mmol) Benzylalkohol und 109,7 g (577 mmol) p-Toluolsulfonsäuremonohydrat in 2200 mL Toluol wurde am Wasser-

15 abscheider langsam zum Rückfluß erhitzt. In einem Temperaturbereich von 80-90°C beobachtete man Chlorwasserstoffentwicklung sowie das Auflösen der Suspension zu einer klaren Lösung. Als sich kein Wasser mehr abschied (ca. 4 h), destillierte man 500 mL Toluol ab, ließ die Reaktionsmischung über Nacht abkühlen,

20 filtrierte den entstandenen Rückstand ab und wusch zweimal mit je 1000 mL Hexan nach. Der erhaltene Rückstand (195 g) wurde sodann in 2000 mL Dichlormethan aufgeschlämmt, mit 1000 mL Wasser versetzt und unter Rühren durch sukzessive Zugabe von 50 %iger Natronlauge auf pH 9-9,5 eingestellt. Man trennte die organische

25 Phase ab, wusch sie zweimal mit je 500 mL Wasser, trocknete sie über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab und engte das Filtrat ein, wodurch man 115 g (94 %) des Titelproduktes als helles Öl erhielt.

30 N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylalaninbenzylester:

115 g (440 mmol) (D)-Cyclohexylalaninbenzylester wurden in 2000 mL Acetonitril gelöst, bei RT mit 607,5 g (4,40 mol) Kalium-

35 carbonat und 94,3 g (484 mmol) Bromessigsäure-tert.-butylester versetzt und 3 Tage bei dieser Temperatur gerührt. Man filtrierte vom Carbonat ab, wusch mit Acetonitril nach, engte die Mutterlauge ein (30°C, 20 mbar), nahm den Rückstand in 1000 mL Methyl-

tert.-butylether auf und extrahierte die organische Phase mit

40 5 %iger Zitronensäure und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Man trocknete die organische Phase über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab, engte ein und setzte das erhaltene Öl (168 g) direkt in die folgende Reaktion ein.

31

N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylalaninbenzylester:

Das in voriger Synthese erhaltene Öl (168 g, 447 mmol) wurde in
5 1400 mL Acetonitril gelöst, mit 618 g (4,47 mol) Kaliumcarbonat-Pulver und 107,3 g (492 mmol) Di-tert.-butyldicarbonat versetzt und 6 Tage bei RT gerührt. Man saugte das Kaliumcarbonat ab, wusch mit ca. 1000 mL Acetonitril nach und engte das Filtrat ein. Man erhielt 230 g des gewünschten Produkts.

10

N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylalanin-cyclohexylammoniumsalz:

115 g N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexyl-
15 alaninbenzylester wurden in 1000 mL reinem Ethanol gelöst und bei 25-30°C in Gegenwart von 9 g 10 %igem Pd auf Aktivkohle 2 h bei Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Nach Filtration und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man 100 g (260 mmol) eines gelben Öls, das man in 1600 mL Aceton auf-
20 nahm und zum Rückfluß erhitze. Man entfernte das Heizbad und gab über einen Tropftrichter zügig eine Lösung von 27 g (273 mmol) Cyclohexylamin in Aceton hinzu. Beim Abkühlen der Reaktionsmischung auf RT kristallisierte das gewünschte Salz aus. Man filtrierte den Feststoff ab, wusch mit 200 mL Aceton nach und
25 kristallisierte zur endgültigen Reinigung noch einmal aus Aceton um. Nach Trocknung des Rückstandes im Vakuumtrockenschrank bei 30°C erhielt man 70,2 g des gewünschten Salzes als weißes Pulver.

N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycin-
30 cyclohexylammoniumsalz wurde in analoger Weise aus Cyclohexylglycin als Edukt hergestellt.

Die N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cycloheptyl-
glycin- bzw. N-Boc-N-(tert.-butoxycarbonylmethylen)-(D)-cyclo-
35 pentyglycin-Derivate wurden aus den entsprechenden Cycloheptyl- und Cyclopentyglycinverbindungen hergestellt.

N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylethylen)-(D)-cyclohexylalanin-cyclohexylammoniumsalz:

40

a) 3-Brom-propionsäure-tert-butylester

16,64 g (109 mmol) Brompropionsäure, 150 mL kondensiertes
2-Methylpropen und 2mL konzentrierte Schwefelsäure wurden bei
45 -30°C im Stickstoffgegenstrom in ein für einen Autoklaven geeignetes Glasgefäß gegeben, fest verschlossen und 72 h bei RT gerührt. Zur Aufarbeitung wurde das Reaktionsgefäß erneut auf

32

-30°C abgekühlt und die Reaktionslösung vorsichtig in 200mL einer eiskalten, gesättigten Natriumhydrogencarbonatlösung gegossen. Unter Rühren ließ man überschüssiges 2-Methylpropen abdampfen, extrahierte den Rückstand dreimal mit je 50 mL
5 Dichlormethan, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat, filtrierte vom Trockenmittel ab und engte im Wasserstrahlvakuum ein. Der ölige Rückstand wurde säulen-
chromatographisch gereinigt (Laufmittel n-Hexan, später
n-Hexan/Diethylether 9:1). Man erhielt 18,8 g der Titel-
10 verbindung.

b) N-(tert.-Butyloxycarbonylethylen)-(D)-cyclohexylalaninbenzyl-
ester

15 49,4 g (189 mmol) (D)-Cyclohexylalaninbenzylester wurden in 250 mL Acetonitril gelöst, bei RT mit 31,6 g (151 mmol) Brom-
propionsäure-tert.-butylester versetzt und 5 Tage unter Rück-
fluß gekocht. Man filtrierte vom entstandenen Niederschlag
ab, wusch mehrmals mit Acetonitril nach, engte das Filtrat im
20 Wasserstrahlvakuum ein, nahm den Rückstand in 350 mL Dichlor-
methan auf und extrahierte die organische Phase mit 5 %iger
Zitronensäure und gesättigter Natriumhydrogencarbonat-Lösung.
Man trocknete die organische Phase über Natriumsulfat,
filtrierte vom Trockenmittel ab und engte ein. Der ölige
25 Rückstand wurde säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel
Dichlormethan, später Dichlormethan/Methanol 95:5). Man
erhielt ein leicht verunreinigtes Öl, das direkt in die
folgende Reaktion eingesetzt wurde.

30 c) N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylethylen)-(D)-cyclohexylalanin-
benzylester

Das in voriger Synthese erhaltene Öl (30g, max. 70mmol) wurde
in 150 mL Acetonitril gelöst, mit 28 mL (160 mmol) Di-iso-
35 propylethylamin und 19,2 g (88 mmol) Di-tert.-butyldicarbonat
versetzt und 3 Tage bei RT gerührt. Man engte das Reaktions-
gemisch am Rotationsverdampfer im Wasserstrahlvakuum ein,
nahm den Rückstand in n-Hexan auf und wusch fünfmal mit je
3 mL einer 5 %igen Zitronensäurelösung, trocknete die ver-
40 einigten organischen Phasen über Natriumsulfat, filtrierte
das Trockenmittel ab, engte ein und unterwarf den Rückstand
einer säulenchromatographischen Trennung (Laufmittel Hexan/
Essigsäureethylester 95:5). Man erhielt 32,66 g (64 mmol) des
gewünschten Produkts.

45

- d) N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylethylen)-(D)-cyclohexylalanin-cyclohexylammoniumsalz

32,66 g (64 mmol) N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylethylen)-(D)-cyclohexylalaninbenzylester wurden in 325 mL reinem Ethanol gelöst und bei 25-30°C in Gegenwart von 3 g 10 %igem Pd auf Aktivkohle 14 h bei Normaldruck mit Wasserstoff hydriert. Nach Filtration der Lösung über Celite®, Nachwaschen mit Ethanol und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhielt man 26,7 g eines gelben Öls, das man in Aceton aufnahm und zum Rückfluß erhitzte. Man entfernte das Heizbad und gab über einen Tropftrichter zügig eine Lösung von 7 g (70 mmol) Cyclohexylamin in Aceton hinzu. Beim Abkühlen der Reaktionsmischung auf RT kristallisierte das gewünschte Salz aus. Man filtrierte den Feststoff ab, wusch mit 25 mL Aceton nach und kristallisierte zur endgültigen Reinigung noch einmal aus Aceton um. Nach Trocknung des Rückstandes im Vakuumtrockenschrank bei 30°C erhielt man 26,6 g (54 mmol) des gewünschten Salzes als weißes Pulver.

20

N-Boc-N-(tert. Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylalanyl-3,4-dehydroprolin:

- a) N-Boc-Pyr-OH (5 g, 23,45 mmol) wurde in MeOH (50 mL) gelöst und mit HCl in Dioxan (4N, 30 mL) versetzt. Anschließend wurde 12 h unter Rückfluß erwärmt. Das Lösungsmittel wurde abrotiert und H-Pyr-OMe Hydrochlorid als Produkt erhalten. Ausbeute: 3,84 g (100%).
- b) N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-OH (8 g, 20,75 mmol) wurde in Dichlormethan (75 mL) gelöst und bei -10°C mit Ethyldiisopropylamin (15,5 mL, 89,24 mmol) versetzt. Nach 5 min Rühren bei dieser Temperatur wurde eine Lösung von H-Pyr-OMe Hydrochlorid (3,4 g, 20,75 mmol) in Dichlormethan (25 mL) zuge-
tropft. Anschließend wurde eine Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (50%ig, 20 mL, 26,96 mmol) zugetropft und 2 h bei -10 bis 0°C gerührt. Der Ansatz wurde mit Dichlormethan verdünnt und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2 x 80 mL), 5%iger Zitronensäurelösung (2 x 15 mL) und gesättigter Natriumchloridlösung (1 x 20 mL) gewaschen. Die organische Phase wurde über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Das Rohprodukt wurde mittels Flashchromatographie gereinigt (Kieselgel, Dichlormethan/Methanol = 95/5). Ausbeute: 6,2 g (60 %).

45

34

- c) N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-Pyr-OMe (5,5 g, 11,12 mmol) wurde in Dioxan (40 mL) gelöst, mit Natronlauge (1N, 22,2 mL, 22,24 mmol) versetzt und 2 h bei RT gerührt. Das Dioxan wurde abrotiert, die wässrige Phase mit Essigsäureethylester gewaschen und mit Kaliumhydrogensulfatlösung (20%ig) auf pH 1-2 angesäuert. Die wässrige Phase wurde mit Dichlormethan extrahiert und die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet. Ausbeute: 5 g (94%), farbloser Schaum. Umkristallisation aus mit Wasser gesättigtem n-Hexan ergab die entsprechende Carbonsäure als farblose Kristalle (m.p. = 158-160°C).

N-Boc-N-(tert.-Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolin und N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolin:

Diese Verbindungen wurden in analoger Weise aus N-Boc-N-(tert.-butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycin und 3,4-Dehydroprolinmethylester bzw. Prolinmethylester dargestellt.

20

N-Boc-N-(tert. Butyloxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolin:

- a) N-(t-BuO₂C-CH₂)-N-Boc-(D)-Cha-OH (20 g, 51,88 mmol) wurde in trockenem Methylenchlorid (100 mL) gelöst. Nach Abkühlen auf -5°C wurde N-Ethyldiisopropylamin (90 mL, 518,88 mmol) zuge tropft und 5 min nachgerührt. Anschließend wurde bei -5°C H-Pro-OBn x HCl (12,54 g, 51,88 mmol) zugegeben und nach 5 min Rühren 50%ige Propanphosphonsäureanhydridlösung in Essigsäureethylester (45,1 mL, 62,26 mmol) verdünnt mit Methylenchlorid (45 mL) über 30 min zugetropft. Nach 1 h Rühren bei 0-5°C wurde langsam auf RT erwärmt und 12 h bei RT gerührt. Der Ansatz wurde mit Methylenchlorid verdünnt und nacheinander mit ges. Natriumhydrogencarbonatlösung, 5%iger Zitronensäurelösung und ges. Natriumchloridlösung gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Ausbeute: 28,9 g (gelbliches Öl, 97%).

- b) Das gemäß a) erhaltene Produkt (28,5 g, 49,76 mmol) wurde in Methanol (650 mL) gelöst, mit 10% Pd auf Kohle (1,8 g) versetzt und bei RT und 1 Atmosphäre Wasserstoff hydriert. Anschließend wurde der Katalysator über Celite® abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt. Ausbeute: 22,2 g (farb- loser Schaum, 92%).

45

D-Bausteine:

Die als D-Bausteine eingesetzten Verbindungen (L)-Prolin und (L)-Azetidincarbonsäure sind entweder als freie Aminosäuren oder
5 als Boc-geschützte Verbindungen oder als entsprechende Methyl-
ester käuflich zu erwerben. Falls das (L)-3,4-Dehydroprolin bzw.
ein entsprechend geschütztes Derivat als D-Baustein eingesetzt
wurde, hydrierte man die dargestellten Verbindungen in der Regel
auf der Endstufe zu den entsprechenden Prolinderivaten.

10

E-Bausteine:

Die Synthese der E-Bausteine wurde wie folgt durchgeführt:

15 5-Aminomethyl-2-cyanothiophen:

Dieser Baustein wurde entsprechend der Vorschrift in WO 95/23609
synthetisiert

20 5-Aminomethyl-2-cyanofuran:

a) 5-Cyanofuran-2-carbaldehyd

Zu einer auf -78°C gekühlten Lösung von 26,7 g (264 mmol)
25 Diisopropylamin in 600 mL Tetrahydrofuran gab man innerhalb
von 20 min 165 mL (264 mmol) einer 1,6 molaren Lösung von
n-Butyllithium in n-Hexan. Die Lösung ließ man auf -20°C
kommen, kühlte erneut auf -75°C und tropfte bei dieser
Temperatur langsam eine Lösung von 22,3 g (240 mmol) 2-Cyano-
30 furan in 100 mL Tetrahydrofuran hinzu. Man ließ 30 min nach-
rühren, tropfte langsam 93 mL Dimethylformamid hinzu und ließ
erneut 30 min rühren. Zur Aufarbeitung versetzte man bei
-70°C mit einer Lösung von 40 g Zitronensäure in 200 mL
Wasser. Man engte am Rotationsverdampfer ein, versetzte mit
35 600 mL gesättigter Natriumchloridlösung und extrahierte drei-
mal mit je 200 mL Diethylether. Die vereinigten organischen
Extrakte wurden über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach dem
Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel im
Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der Rückstand säulen-
40 chromatographisch gereinigt (Laufmittel Dichlormethan). Das
Eluat wurde eingeeengt und der Rückstand einer Wasserdampf-
destillation unterzogen (Siedebereich des Azeotrops mit
Wasser: 60-65°C bei p=0,1 mm Hg). Nach der Extraktion des
Destillates mit Diethylether, Trocknen der organischen Phase
45 und Einengen der Lösung erhielt man 10,6 g (88 mmol, 36 %)

36

der Titelverbindung. $^1\text{H-NMR}$ (270 MHz, d_6 -DMSO): δ = 7,7 (d, 1H), 7,8 (d, 1H), 9,75 (s, 1H).

b) 5-Hydroxymethyl-2-cyanofuran

5

Zu einer Lösung von 30 g (0,25 mol) 5-Cyanofuran-2-carbaldehyd in 500 mL absolutem Ethanol wurden bei -30°C portionsweise 2,34 g (62 mmol) Natriumborhydrid gegeben. Man rührte 2 h bei -30°C und brachte die gekühlte Reaktionslösung mit Hilfe einer 5 %igen Zitronensäurelösung in Wasser auf pH 7. Man engte das Reaktionsgemisch im Wasserstrahlvakuum ein, versetzte den Rückstand mit gesättigter Natriumchloridlösung, extrahierte mehrfach mit je 150 mL Diethylether, trocknete die vereinigten organischen Phasen über Magnesiumsulfat, 15 filtrierte das Trockenmittel ab und destillierte das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum bei RT ab. Man erhielt 27 g (22 mmol, 88 %) der Titelverbindung als dunkelrotes Öl, das ohne weitere Reinigung in die folgenden Umsetzungen eingesetzt wurde. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, d_6 -DMSO): δ = 4,4 (m, 2H), 20 5,6 (bs, 1H), 6,6 (d, 1H), 7,5 (d, 1H).

c) 5-Brommethyl-2-cyanofuran

Zu einer Lösung von 15 g (121 mol) 5-Hydroxymethyl-2-cyanofuran in 250 mL Tetrahydrofuran wurden 38 g (145 mmol) Triphenylphosphin gegeben. Man kühlte auf -10°C und gab eine Lösung von 48 g (145 mmol) Tetrabrommethan in 100 mL Tetrahydrofuran hinzu. Man ließ auf RT erwärmen und rührte 3 h bei dieser Temperatur. Die Reaktionsmischung wurde am Rotationsverdampfer im Wasserstrahlvakuum eingeengt und der Rückstand säulenchromatographisch gereinigt (Laufmittel Petrolether: 25 Dichlormethan 1:1, R_f = 0,5). Man erhielt 11,5g der Titelverbindung. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, d_6 -DMSO): δ = 4,8 (m, 2H), 30 6,7 (d, 1H), 7,7 (d, 1H).

35

d) 5-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)aminomethyl-2-cyanofuran:

Eine auf 0°C gekühlte Lösung von 22,9 g (123 mmol) 5-Brommethyl-2-cyanofuran in 400 mL Tetrahydrofuran wurde portionsweise mit 4,0 g (135 mmol) Natriumhydrid (80 %ige Suspension in Mineralöl) versetzt. Anschließend wurde eine Lösung von 29,4 g (135 mmol) Di-tert.-butyl-iminodicarboxylat in 200 mL Tetrahydrofuran hinzugeotropft, wobei die Temperatur 5°C nicht überstieg. Man ließ auf RT erwärmen und über Nacht rühren. Da der Umsatz unvollständig war (DC-Kontrolle), wurden über 45 einen Zeitraum von 9 h noch insgesamt 1,2 g Natriumhydrid in drei Portionen nachgegeben. Man erwärmte zur Vervollständigung des Umsatzes noch 3 h auf 35°C , ließ danach auf RT

37

abkühlen und versetzte langsam mit 600 mL einer gesättigten Ammoniumchloridlösung. Das Lösungsmittel wurde im Wasserstrahlvakuum abdestilliert, der Rückstand mehrere Male mit Essigsäureethylester extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt. Man erhielt 37,3 g eines öligen Rückstandes, der noch Di-tert.-butyl-iminodicarboxylat enthielt und als Rohprodukt in die folgende Umsetzung eingesetzt wurde. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, d_6 -DMSO): δ = 1,40, 1,45 (s, 18H), 4,75 (s, 2H), 6,55 (d, 1H), 7,55 (d, 1H).

e) 5-Aminomethyl-2-cyanofuranhydrochlorid

37,3 g 5-N,N-Bis(tert.-butoxycarbonyl)aminomethyl-2-cyanofuran (Rohprodukt aus d), maximal 123 mmol) wurden in 600 mL Essigsäureethylester gelöst und auf 0°C gekühlt. Man sättigte mit Chlorwasserstoffgas, wobei nach 30 min ein weißer Niederschlag ausfiel. Man ließ auf RT kommen, ließ über Nacht rühren, engte die entstandene Suspension anschließend am Rotationsverdampfer ein, rührte den Rückstand mit Diethylether aus, filtrierte vom Lösungsmittel ab und trocknete den festen Rückstand bei RT im Vakuum. Man erhielt 15,1g (77% Ausbeute über zwei Stufen) der Titelverbindung als leicht ockerfarbenes Pulver. $^1\text{H-NMR}$ (250 MHz, d_6 -DMSO): δ = 4,15 (bs, 2H), 6,85 (d, 1H), 7,65 (d, 1H), 8,8-9,0 (bs, 3H).

5-Aminomethyl-2-amidothiocarbonyl-1,3,4-thiadiazolhydrochlorid:

30 a) N-Chloracetyl-N'-carbamoylcarbonyl-hydrazin

Zu einer Lösung von 52 g (0,5 mol) Oxamidsäurehydrazid in 700 mL Dimethylformamid wurden portionsweise 55,1 g (0,66 mol, 1,3 Äquivalente) Natriumhydrogencarbonat gegeben. Unter leichter Kühlung (10°C) gab man innerhalb von 45 min tropfenweise 52,2 mL (0,66 mol) Chloracetylchlorid hinzu. Zur Aufarbeitung wurde die trübe Lösung eingeeengt. Der noch Dimethylformamid enthaltende Rückstand wurde mit 700 mL Diethylether versetzt und kräftig gerührt. Man filtrierte den Niederschlag ab, kristallisierte ihn aus Wasser um. Da der erhaltene Feststoff sich nicht trocknen ließ, wurde er noch einmal in Aceton aufgenommen, gut durchgerührt, abgesaugt und mit Aceton und Diethylether nachgewaschen. Nach Trocknen des Rückstandes bei 50 °C im Hochvakuum erhielt man 68,6 g (76%) des gewünschten Produktes.

38

b) 5-Chloromethyl-2-amidothiocarbonyl-1,3,4-thiadiazol

Eine Suspension von 23,0 g (128 mmol) N-Chloracetyl-N'-carbamoylcarbonyl-hydrazin in 240 mL Dioxan wurde bei RT
5 nacheinander mit 14,1 g (141 mmol) Kaliumhydrogencarbonat und 28,5 g (64 mmol) Phosphorpentasulfid versetzt. Man rührte 2 h bei 50°C und über Nacht bei RT. Mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung wurde neutralisiert. Man extrahierte mehrmals mit Essigsäureethylester, trocknete die vereinigten
10 organischen Phasen über Natriumsulfat und engte am Rotationsverdampfer ein. Der Rückstand wurde in Diethylether aufgenommen, kräftig durchgerührt und abfiltriert. Nach Trocknung erhielt man 21 g (85%) des gewünschten Produktes, das ohne weitere Reinigung weiter umgesetzt wurde.

15

c) 5-Azidomethyl-2-amidothiocarbonyl-1,3,4-thiadiazol

Das gemäß b) erhaltene Produkt (21 g, 108 mmol) wurde in 300 mL trockenem Aceton gelöst, mit 17,6 g (271 mmol)
20 Natriumazid versetzt und auf 50-60°C erwärmt. Man rührte 11 h bei dieser Temperatur, wobei sich die anfangs gelbe Lösung tief orange färbte. Man rührte über Nacht bei RT nach, saugte vom entstandenen Feststoff ab, wusch mit Aceton nach, engte ein, nahm in 400 mL Essigsäureethylester auf und rührte mit
25 50 mL Wasser. Unlösliche Anteile des Zweiphasengemisches wurden abgesaugt, dann die Phasen getrennt. Die Essigsäureethylester-Phase wurde getrocknet, eingeeengt und der Rückstand säulenchromatographisch (Kieselgel, Dichlormethan/
Methanol) gereinigt. Man erhielt 11,6 g des gewünschten
30 Produktes.

d) 5-Aminomethyl-2-amidothiocarbonyl-1,3,4-thiadiazol

5,3 g (26,5 mmol) 5-Azidomethyl-2-amidothiocarbonyl-1,3,4-thiadiazol wurden in 26 mL Methanol gelöst und zunächst bei
35 RT mit 11 mL (79 mmol) Triethylamin, dann bei 0°C langsam mit 8,0 mL (79 mmol) Propandithiol versetzt. Die Reaktion verlief stark exotherm, die Reaktionslösung färbte sich schwarz. Man rührte noch zwei Stunden bei RT, saugte den ausgefallenen
40 Niederschlag ab, wusch ihn mit Methanol und Diethylether nach, nahm ihn in 50 mL Ethanol auf, rührte über Nacht bei RT, saugte ab und wusch mit wenig Ethanol nach. Der Rückstand wurde in Diethylether/Petrolether gerührt, abgesaugt und mit Petrolether nachgewaschen. Man erhielt nach Trocknen im
45 Vakuum 2,4 g des gewünschten Produktes, welches trotz noch

vorhandener Verunreinigungen direkt weiter umgesetzt wurde (Beispiel 10).

2-Aminomethyl-5-cyanothiazol-hydrochlorid

5

a) 2-(Boc-aminomethyl)-thiazol-5-carbonsäuremethylester

In 100 ml Dichlorethan wurden 10.2 g (74.7 mmol) 2-Chlor-3-oxopropionsäuremethylester und 14.2 g (74.7 mmol) N-Boc-glycin-thioamid suspendiert, 6h bei 70°C gerührt (DC-Kontrolle), im Vakuum eingeeengt, der Rückstand in Wasser aufgenommen, bei PH 5 mehrfach mit Dichlormethan extrahiert, die organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und erneut im Vakuum eingeeengt. Das Rohprodukt (15.3 g) wurde in Diethylether gelöst, anschließend mit n-Hexan versetzt, die Lösung dekantiert und der Rückstand erneut diesem Prozeß unterworfen. Nach zweimaliger Wiederholung wurden die gesammelten Lösungen vereinigt und im Vakuum einrotiert. Es wurden 8.1 g der gewünschten Verbindung erhalten.

20

b) 2-(Boc-aminomethyl)-thiazol-5-carbonsäure

In 50 ml THF wurden 6.5 g (23.8 mmol) 2-(Boc-aminomethyl)-thiazol-5-carbonsäuremethylester gelöst, mit 11.9 ml 2N wässriger Lithiumhydroxidlösung (23.8 mmol) versetzt, 3h bei Raumtemperatur gerührt (DC-Kontrolle), anschließend mit 50 ml Wasser versetzt, dreimal zur Entfernung unpolarer Nebenprodukte mit Dichlormethan extrahiert, die wässrige Phase auf PH3 angesäuert und das Wertprodukt durch dreifache Extraktion mit Dichlormethan isoliert. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat wurde die organische Phase einrotiert und in wenig Diethylether ausgerührt, wobei 4.8 g der gewünschten Verbindung erhalten wurden.

30

35 c) 2-(Boc-aminomethyl)-thiazol-5-carbonsäureamid

In 300 ml Dichlormethan wurden 4.95 g (19.16 mmol) 2-(Boc-aminomethyl)-thiazol-5-carbonsäure suspendiert, mit Ammoniakgas gesättigt, unter weiterem Einleiten von Ammoniak tropfenweise mit 44.2 ml Propanphosphonsäureanhydrid (50%ige Lösung in Essigester, 57.4 mmol) versetzt und anschließend 3h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Zugabe von 50 ml Wasser und 30minütigem Rühren wurde der Niederschlag abgesaugt (3.2 g), die organische Phase abgetrennt, die wässrige Phase viermal mit Dichlormethan extrahiert, die gesammelten organischen Phasen über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum ein-

40

45

geengt (1.7 g). Die beiden Rohproduktanteile wurden aus Dichlormethan ausgerührt und so in reiner Form erhalten.

d) 2-(Boc-aminomethyl)- 5-cyanothiazol

5

Zu einer Mischung aus 50 ml Dichlormethan, 5.5 g (21.4 mmol) 2-(Boc-aminomethyl)-thiazol-5-carbonsäureamid und 13.8 g (106.9 mmol, 18.3 ml) Diisopropylethylamin tropfte man bei 0°C 1.2 g (53.4 mmol, 7.5 ml) Trifluoressigsäureanhydrid und rührte die Lösung anschließend 24h bei Raumtemperatur. Die Reaktionslösung wurde mit Dichlormethan verdünnt, zweimal mit Wasser, dreimal mit wässriger Salzsäurelösung (PH=2), einmal mit Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Das Rohprodukt (8.0 g) wurde ohne weitere Reinigung in der nachfolgenden Reaktion eingesetzt.

10

15

e) 2-Aminomethyl-5-cyanothiazol-hydrochlorid

20

25

2-(Boc-aminomethyl)- 5-cyanothiazol (8.0 g Rohprodukt) wurden in 150 ml Isopropanol gelöst, mit 67 ml 5M isopropanolischer Salzsäurelösung versetzt und über Nacht im verschlossenen Gefäß gerührt. Die Lösung wurde im Vakuum eingeengt, mehrfach mit Dichlormethan kodestilliert und aus Ether ausgerührt. Dabei wurden 4.0 g der gewünschten Verbindung in reiner Form erhalten.

Beispiel 1: N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat:

30 a) 3,4-Dehydroprolyl-[5-(2-cyano)-thienylmethyl]amid

35

40

45

Boc-3,4-Dehydroprolin (5 g, 23,4 mmol) und 5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid (4,5 g, 25,8 mmol) wurden in Dichlormethan (25 mL) gelöst und bei 0°C mit Ethyldiisopropylamin (28 mL, 163,8 mmol) mit einer 50 %igen Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester (24,8 mL, 117 mmol) versetzt. Nach 1 h Rühren bei 0°C wurde auf RT erwärmt und 12 h bei RT nachgerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit Dichlormethan verdünnt, mit Natriumhydrogensulfatlösung (4x), Natriumhydrogencarbonatlösung (3x) und gesättigter Natriumchloridlösung (1x) gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat und Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde zur Abspaltung der Boc-Gruppe in Dichlormethan (95 mL) versetzt, bei RT gerührt, zur Trockne eingedampft, zweimal mit Dichlormethan kodestilliert, erneut eingeengt und säulenchromatographisch gereinigt. Man erhielt 6,6 g des ge-

wünschten Produktes welches noch leicht lösungsmittelhaltig war.

- 5 b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-[5-(2-cyano)-thienyl]methylanid

10 t-BuO₂C-CH₂-Boc-(D)-Chg-OH (6,5 g, 17,5 mmol) und H-Pyr-NH-CH₂-5-(2-CN)-thioph-hydrochlorid (4,72 g, 17,5 mmol) wurden in Dichlormethan (90 mL) suspendiert und mit Ethyldiisopropylamin (11,3 g, 87,5 mmol) versetzt, wobei eine klare, leicht rötliche Lösung entstand. Das Reaktionsgemisch wurde auf ca 5°C abgekühlt und tropfenweise mit einer 50 %igen Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethyl-
15 ester (18 mL) versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT wurde mit Dichlormethan (100 mL) verdünnt und mit verd. Natriumhydrogensulfatlösung (3x), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2x) und Wasser (1x) gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel nach Abtrennung des Trockenmittels im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man
20 erhielt 11,15 g eines leicht rötlich braunen Öls.

- 25 c) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-[5-(2-amidothiocarbonyl)-thienylmethyl]amid

Das gemäß b) erhaltene Produkt wurde in Pyridin (68 mL) und Triethylamin (11,5 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde auf 0°C gekühlt und mit Schwefelwasserstoff gesättigt (die Lösung färbte sich grün). Die Reaktionslösung stand über Nacht
30 bei RT. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wurde mit Stickstoff verdrängt und das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Der Rückstand wurde in Diethylether (500 mL) gelöst, mit verdünnter Natriumhydrogensulfatlösung (3x), gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung (2x) und
35 Wasser (1x) gewaschen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Das gelbe zähe Rohprodukt (10,92 g) wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt.

- 40 d) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-[5-(2-S-methyliminothiocarbonyl)-thienylmethyl]amid-hydroiodid

45 Das gemäß c) erhaltene Rohprodukt wurde in Dichlormethan (115 mL) gelöst und mit Methyliodid (14,99 g, 105,6 mmol) versetzt. Nach Rühren übers Wochenende bei RT wurde das

Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 12,6 g eines gelblichen festen Schaums.

- e) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat

Das gemäß d) erhaltene Rohprodukt wurde mit 25,5 mL einer 10 %igen Lösung von Ammoniumacetat in Methanol (2,55 g Ammoniumacetat, 38,12 mmol) versetzt. Da nach Rühren über Nacht bei RT laut DC noch Edukt vorhanden war wurden nochmals 3,0 mL einer 10 %igen Lösung von Ammoniumacetat in Methanol zugefügt und über Nacht bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, die Salze abgesaugt und das Filtrat eingeeengt, wobei 13,3 g Rohprodukt in Form eines gelben festen Schaums erhalten wurden.

- f) N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-3,4-dehydroprolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat

Das gemäß e) erhaltene Produkt wurde in 180 mL Dichlormethan gelöst und tropfenweise mit etherischer Salzsäurelösung (46,5 mL, ca 5 mol/l) versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert, der Rückstand mit Dichlormethan versetzt und das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert (2x). Das Rohprodukt (8,96 g) wurde in Methanol gelöst und über einen Ionenaustauscher (Fluka, Bestell-Nr. 00402) in das Acetatsalz überführt.

- g) N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycylprolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat
- 1,5 g (2,96 mmol) des gemäß f) erhaltenen Rohproduktes wurden in 60 mL trockenem Methanol und 15 mL Eisessig gelöst, mit 0,75 g 10%igem Palladium auf Aktivkohle versetzt und 24 h unter leichtem Wasserstoffüberdruck bei RT hydriert. Danach wurde der Katalysator zweimal ausgetauscht und weitere zwei Tage hydriert. Nach Absaugen des Katalysators und Einengen der Lösung wurde das Rohprodukt mittels MPLC (RP-18, Acetonitril/Wasser) gereinigt und die Fraktionen gefriergetrocknet. Man erhielt 0,5 g des Zielproduktes als amorphen weißen Feststoff, FAB-MS (M+H⁺): 450

Alternativ zu der hier beschriebenen Darstellungsweise kann anstelle von Boc-(L)-3,4-dehydroprolin Boc-prolin eingesetzt werden, wobei dann die Hydrierung auf der Endstufe entfällt.

5 Analog Beispiel 1 wurde hergestellt:

Beispiel 2:

N-(Hydroxycarbonyl-ethylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolyl-
10 [5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat, FAB-MS (M+H⁺): 478

Die Darstellung erfolgte ausgehend von N-(tert.-Butoxycarbonyl-ethylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanin und 3,4-Dehydroprolyl-[5-(2-cyano)-thienylmethyl]amid über mehrere Stufen einschließ-
15 lich Hydrierung analog Beispiel 1.

Analog Beispiel 1 lassen sich folgende Verbindungen darstellen:

Beispiel 3:

20 N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cycloheptylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat bzw. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(L)-cycloheptylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat. Die Trennung der beiden diastereomeren Verbindungen erfolgt auf der Endstufe mittels
25 Reversed phase HPLC (Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer).

Beispiel 4:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclopentylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat bzw. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(L)-cyclopentylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat. Die Trennung der beiden diastereomeren Verbindungen erfolgt auf der Endstufe mittels Reversed
30 phase HPLC (Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer).

35 Beispiel 5:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cycloheptylalanyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat bzw. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(L)-cycloheptylalanyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat. Die Trennung der beiden
40 diastereomeren Verbindungen erfolgt auf der Endstufe mittels Reversed phase HPLC (Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer).

Beispiel 6:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclopentylalanyl-prolyl-
45 [5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat bzw. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(L)-cyclopentylalanyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat. Die Trennung der beiden

diastereomeren Verbindungen erfolgt auf der Endstufe mittels Reversed phase HPLC (Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer).

Beispiel 7:

- 5 N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-adamantylalanyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid-hydroacetat bzw. N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(L)-adamantylalanyl-prolyl-[5-(2-amidino)-thienyl-methyl]amid-hydroacetat. Die Trennung der beiden diastereomeren Verbindungen erfolgt auf der Endstufe mittels Reversed phase HPLC
10 (Acetonitril/Wasser und HOAc Puffer).

Beispiel 8:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-furylmethyl]amid-hydroacetat:

15

- a) Prolyl-[5-(2-cyano)-furylmethyl]amid-hydrochlorid

20

Zu einer Suspension von 737 mg (4,6 mmol) 5-Aminomethyl-2-cyanofuran-hydrochlorid in 20 mL Dichlormethan wurden bei RT 1,0 g (4,6 mmol) Boc-ProOH und 5,57 mL (432,5 mmol) Ethyl-diisopropylamin gegeben. Unter leichter Kühlung tropfte man bei 5 °C 4,92 mL (23,2 mmol) einer 50 %igen Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester hinzu. Nach Rühren über Nacht bei RT wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Essigsäureethylester aufgenommen und zur Zerstörung des überschüssigen PPAs 30 min in Wasser gerührt. Nach Trennung der Phasen wurde die organische Phase mit Hilfe von 20%iger Natriumhydrogensulfatlösung von Ethyldiisopropylamin befreit. Nach Trocknen über Natriumsulfat und Abfiltrieren des Trockenmittels wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet. Man erhielt 1,43g (97%) eines gelblichen Öls, das direkt weiter umgesetzt wurde.

25

30

35

Das gemäß a) erhaltene Öl (1,43g, 4,48 mmol) wurde zur Abspaltung der Boc-Gruppe in 45 mL Dichlormethan gelöst und bei RT mit 9 mL einer ca. 5M Lösung von Chlorwasserstoff in Diethylether versetzt. Man ließ über Nacht rühren und engte das Reaktionsgemisch am Rotationsverdampfer zur Trockne ein. Man erhielt 1,14 g (83%) der Titelverbindung.

40

- b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-cyano)-furylmethyl]amid

45

1,66 g (4,48 mmol) t-BuO₂C-CH₂-(Boc)-(D)-Chg-OH und 1,38 g (4,48 mmol) Prolyl-[5-(2-cyano)-furylmethyl]amid-hydrochlorid wurden in 20 mL Dichlormethan suspendiert und mit 5,37 mL

45

(31,3 mmol) Ethyldiisopropylamin versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde auf ca 5°C abgekühlt und tropfenweise mit 4,75 mL einer 50 %igen Lösung von Propanphosphonsäureanhydrid in Essigsäureethylester versetzt, wobei sich die Lösung klärte.

- 5 Nach Rühren über Nacht bei RT wurde zur Trockne eingedampft, der Rückstand in Essigsäureethylester aufgenommen und zur Zerstörung des überschüssigen PPAs 30 min in Wasser gerührt. Man trennte die organische Phase ab und wusch mit 20%iger Natriumhydrogensulfatlösung, um Reste von Ethyldiisopropylamin abzutrennen. Nach Trocknen über Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel nach Abtrennung des Trockenmittels im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Man erhielt 2,67 g (96 %) des gewünschten Produktes als Öl.
- 10

- 15 c) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-amidothiocarbonyl)-furylmethyl]amid

- Das gemäß b) erhaltene Produkt wurde in Pyridin (16 mL) und Triethylamin (8 mL) gelöst. Die Reaktionsmischung wurde bei RT mit Schwefelwasserstoff gesättigt und über Nacht bei RT gerührt. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wurde mit Stickstoff verdrängt und das Reaktionsgemisch auf 200 mL eisgekühlte 5%ige Natriumhydrogensulfatlösung 'gegossen'. Man extrahierte dreimal mit je 50 mL Essigsäureethylester und wusch die vereinigten Essigsäureethylester-Phasen noch einmal mit 5%iger Natriumhydrogensulfatlösung, um Reste von Pyridin zu entfernen. Man wusch dann noch einmal mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, trocknete über Natriumsulfat und destillierte das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum ab. Das erhaltene Rohprodukt (2,55 g) wurde ohne weitere Reinigung in die nächste Stufe eingesetzt.
- 20
- 25
- 30

- d) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-S-methyliminothiocarbonyl)-furylmethyl]amid-hydroiodid
- 35

- Das gemäß c) erhaltene Rohprodukt wurde in 40 mL Aceton gelöst und mit 2,89 mL (46,2 mmol) Methyliodid versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert. Nach Trocknen bei RT im Vakuum erhielt man 2,57 g eines festen Schaums.
- 40

- e) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-furylmethyl]amid-hydroacetat

Das gemäß d) erhaltene Rohprodukt (2,57 g, 3,43 mmol) wurde in 25 mL Acetonitril gelöst, mit 0,53g (6,87 mmol) Ammoniumacetat versetzt und acht Stunden bei 40°C und über Nacht bei RT gerührt. Danach wurde das Lösungsmittel im Wasserstrahlvakuum abdestilliert, der Rückstand in Dichlormethan aufgenommen, die Salze abgesaugt und das Filtrat eingeeengt. Das Rohprodukt wurde mittels Reversed phase HPLC (Acetonitril/Wasser und Essigsäure-Puffer) gereinigt, wobei man 67 mg eines gelben festen Schaums erhielt.

- f) N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[5-(2-amidino)-furylmethyl]amid-hydroacetat

Das gemäß e) erhaltene Produkt (67 mg, 0,1 mmol) wurde mit 5 mL einer 1 N wäßrigen Salzsäurelösung und 2 mL Dioxan versetzt. Nach Rühren über Nacht bei RT wurde mit Wasser verdünnt und die erhaltene Mischung gefriergetrocknet. Das so erhaltene Rohprodukt wurde mittels MPLC gereinigt (RP-18, Acetonitril/Wasser), wobei man 12 mg des gewünschten Produkts erhielt. FAB-MS (M+H⁺): 434

- 25 Beispiel 9: N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanylprolyl-[5-(2-amidino)-furylmethyl]amid-hydroacetat

FAB-MS (M+H⁺): 448

- 30 Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 8, wobei in b) N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylalanin anstelle von N-(tert.Butoxycarbonyl-methylen)-(N-Boc)-(D)-cyclohexylglycin eingesetzt wurde.

- 35 Beispiel 10: N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanylprolyl-[5-(2-amidino)-1,3,4-thiadiazolmethyl]amid-hydroacetat, FAB-MS (M+H⁺): 466:

Die Darstellung erfolgte analog Beispiel 9, wobei in b) Prolyl-[5-(2-amidothiocarbonyl)-1,3,4 thiadiazolmethyl]amidhydrochlorid anstelle von Prolyl-[5-(2-cyano)-furylmethyl]amidhydrochlorid eingesetzt wurde, so daß c) entfiel. In e) wurde als Lösungsmittel Methanol anstelle von Acetonitril eingesetzt. In f) wurde 3 h bei 60 °C gerührt anstatt über Nacht bei RT.

Beispiel 11: 1-[N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl]-azetidin-2-carbonsäure-[5-(2-amidino)thienylmethyl]amid

- a) 1-[N-t-Butoxycarbonyl)-(D)-cyclohexylglycyl]-azetidin-2-carbonsäure-[5-(2-cyano)thienylmethyl]amid:

Zu einer Lösung von 3,9 g (11,5 mmol) 1-[N-(t-Butoxycarbonyl)-(D)-cyclohexylglycyl]-azetidin-2-carbonsäure (WO 9429336) und 2 g (11,5 mmol) 5-Aminomethyl-2-cyanothiophen-hydrochlorid in 40 mL Methylenchlorid tropfte man bei -5°C 5,9 g (45,8 mmol) Diisopropylethylamin und anschließend 11,5 mL (14,9 mmol) 50%ige Propanphosphonsäureanhydridlösung in Essigsäureethylester. Es wurde 2 h nachgerührt, wobei die Temperatur auf 10°C anstieg. Die organische Phase wurde mit Wasser, 5%iger Natriumbicarbonat- und 5%iger Zitronensäurelösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und zur Trockene eingeengt. Die säulenchromatographische Reinigung (Kieselgel, Eluent: Essigsäureethylester) des Rückstands ergab 4,5 g (85% d. Th.) weißes, amorphes Pulver, FAB-MS: 461 (M+H⁺).

- b) 1-[N-(t-Butoxycarbonylmethylen)-(D)-cyclohexylglycyl]-azetidin-2-carbonsäure-[5-(2-cyano)thienylmethyl]amid
- 4,5 g (3,8 mmol) der vorstehenden Verbindung wurden in 70 mL Isopropanol gelöst, mit 12,3 mL 4N Salzsäure in Dioxan versetzt und über Nacht bei RT stehen gelassen. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand in Methylenchlorid gelöst und 3x mit Wasser extrahiert. Die vereinigten wässrigen Extrakte wurden mit 1N Natronlauge alkalisch gestellt, die abgeschiedene ölige Base 3x mit Methylenchlorid extrahiert und anschließend das Lösungsmittel abdestilliert. Es verblieben 2,9 g (8 mmol) Öl. Dieses wurde in 50 mL Methylenchlorid und 10 mL Acetonitril gelöst und nach Zugabe von 2,1 g (16 mmol) Diisopropylethylamin und 1,5 g (7,6 mmol) Bromessigsäure-t-butylester 24 h bei RT stehen gelassen.

Die organische Phase wurde jeweils 2x mit 5%iger Zitronensäurelösung, 5%iger Natriumhydrogencarbonatlösung und Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Es verblieben 3,3 g (92% d. Th.) leicht gelbliches Öl. FAB-MS: 475 (M+H⁺).

- c) 1-[N-Hydroxycarbonylmethylen]-(D)-cyclohexylglycyl]-azetidin-2-carbonsäure-[5-(2-amidino)thienylmethyl]amid

Die Überführung des vorstehenden Produkts in das Amidin erfolgte analog Beispiel 1. Das erhaltene Rohamidin enthielt beträchtliche Mengen eines Nebenprodukts und mußte säulen-chromatographisch (Kieselgel, Eluent: Methylenchlorid: Methanol:Essigsäure = 24:6:1,5) gereinigt werden. Es wurden 0,9 g als weißes, amorphes Pulver isoliert. Die Abspaltung der t-Butylestergruppe erfolgte durch 12 stündiges Stehen-lassen in 3N Salzsäure. Nach Abdestillieren der Salzsäure am Schluß unter Zusatz von Toluol wurde der salzsaure Rückstand durch Chromatographie über eine Kieselgelsäule mit einem Methanol/25%igem Ammoniak-Eluenten (50/2,5) in das Betain überführt. Man erhielt 0,45 g weißes, amorphes Pulver, FAB-MS: 463 (M+H⁺).

Beispiel 12:

- 1-[N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl]-azetidin-2-carbonsäure-[5-(2-amidino)-thienylmethyl]amid läßt sich analog Beispiel 11 darstellen.

Beispiel 13:

- Analog Beispiel 8 läßt sich N-(Hydroxycarbonyl-ethylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolyl-[5-(2-amidino)-furylmethyl]amid-hydro-acetat herstellen.

Beispiel 14:

- N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolyl-[2-(5-amidino)-thiazolylmethyl]amid läßt sich nach folgender Reaktionssequenz herstellen: Kupplung von (t-BuO₂C-CH₂-)-(Boc)-(D)-Cha-Pro-OH mit H₂N-CH₂-(5-CN)-2-thiaz zu (t-BuO₂C-CH₂-)-(Boc)-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-(5-CN)-2-thiaz, Amidinbildung und anschließende Schutzgruppenabspaltung analog Beispiel 8c-f.

Beispiel 15:

- N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-[2-(5-amidino)-thiazolylmethyl]amid läßt sich nach folgender Reaktionssequenz herstellen: Kupplung von (t-BuO₂C-CH₂-)-(Boc)-(D)-Chg-Pro-OH mit H₂N-CH₂-(5-CN)-2-thiaz zu (t-BuO₂C-CH₂-)-(Boc)-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-(5-CN)-2-thiaz, Amidinbildung und anschließende Schutzgruppenabspaltung analog Beispiel 8c-f.

Beispiel 16:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-p-metoxyphenylalanyl-prolyl-
[2-(5-amidino)-thienylmethyl]amid lässt sich analog WO98/06741
(Beispiel 14) aus den entsprechenden A-B-D- und E-F-Bausteinen
5 darstellen.

Beispiel 17:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-p-trifluormethylphenylalanyl-
prolyl-[2-(5-amidino)-thienylmethyl]amid lässt sich analog
10 WO98/06741 (Beispiel 14) aus den entsprechenden A-B-D- und
E-F-Bausteinen darstellen.

Beispiel 18:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolyl-
15 [5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich durch
Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-(2-CN)-5-
thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diisopropylethyl-
amin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppenabspaltung
(HCl in Dichlormethan bei Raumtemperatur) darstellen.

20

Beispiel 19:

N-(Methoxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolyl-
[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich durch
Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-(2-CN)-5-
25 thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diisopropylethyl-
amin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppenabspaltung
und Umesterung (HCl in Methanol bei Raumtemperatur) darstellen.

Beispiel 20:

30 N-(Ethoxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylalanyl-prolyl-
[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich durch
Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Cha-Pro-NH-CH₂-(2-CN)-5-
thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diisopropylethyl-
amin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppenabspaltung
35 und Umesterung (HCl in Ethanol bei Raumtemperatur) darstellen.

Beispiel 21:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-
[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich durch
40 Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-(2-CN)-5-
thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diisopropylethyl-
amin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppenabspaltung
(HCl in Dichlormethan bei Raumtemperatur) darstellen.

45

Beispiel 22:

N-(Methoxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-
[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich durch
Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-(2-CN)-5-
5 thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diisopropylethyl-
amin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppenabspaltung
und Umesterung (HCl in Methanol bei Raumtemperatur) darstellen.

Beispiel 23:

10 N-(Ethoxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-prolyl-
[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich durch
Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Chg-Pro-NH-CH₂-(2-CN)-5-
thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diisopropylethyl-
amin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppenabspaltung
15 und Umesterung (HCl in Ethanol bei Raumtemperatur) darstellen.

Beispiel 24:

N-(Hydroxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-azetidin-2-
carbonsäure-[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich
durch Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-
20 (2-CN)-5-thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diiso-
propylethylamin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppen-
abspaltung (HCl in Dichlormethan bei Raumtemperatur) darstellen.

Beispiel 25:

25 N-(Methoxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-azetidin-2-
carbonsäure-[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich
durch Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-
(2-CN)-5-thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diiso-
propylethylamin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppen-
30 abspaltung und Umesterung (HCl in Methanol bei Raumtemperatur)
darstellen.

Beispiel 26:

N-(Ethoxycarbonyl-methylen)-(D)-cyclohexylglycyl-azetidin-2-
35 carbonsäure-[5-(2-hydroxyamidino)-thienylmethyl]amid lässt sich
durch Umsetzung von (t-BuO₂C-CH₂)-(Boc)-(D)-Chg-Aze-NH-CH₂-
(2-CN)-5-thioph mit Hydroxylaminhydrochlorid (Methanol, Diiso-
propylethylamin, Raumtemperatur) und anschließende Schutzgruppen-
abspaltung und Umesterung (HCl in Ethanol bei Raumtemperatur)
40 darstellen.

Pharmakologische Beispiele

Beispiel A

Chromogener Test für Kallikrein-Inhibitoren

5

Reagenzien: Kallikrein aus humanen Plasma (Nr. K 3126, Sigma, Deisenhofen, Deutschland)
Substrat: Chromozym GK (Nr. 709875, Boehringer, Mannheim, Deutschland)

10

Puffer: 20mM Tris(HCl pH = 8.50

Experimentelles Verfahren:

15

Der chromogene Test zur Bestimmung der Kallikrein-Aktivität wird in Mikroplatten durchgeführt. 2 µl der Substanzlösung in DMSO werden zu 93 µl Puffer gegeben, mit einer finalen Konzentration von 0.01 Units/ml Kallikrein vermischt. Es wird

20

10 Minuten bei 20 bis 25°C inkubiert. Der Test wird gestartet, indem 100 µl Substrat (500 µmol/l finale Konzentration) zugegeben werden. Nach weiteren 30 Minuten Inkubation wird bei 405 nm im Photometer die Absorption gemessen.

25 Beispiel B

Thrombinzeit

Reagenzien: Thrombin Reagenz (Kat. Nr. 126 594, Boehringer, Mannheim, Deutschland)

30

Präparation von Citrat-Plasma:

9 Teile von venösem humanem Blut der V. cephalica werden mit einem Teil Natriumcitrat Lösung (0,11 mol/l) gemischt. Anschließend abzentrifugiert.

35

Das Plasma kann bei -20°C gelagert werden.

Experimentelles Verfahren:

40

50 µl Testsubstanz Lösung und 50 µl Citrat-Plasma werden für 2 Minuten bei 37°C inkubiert (CL8, ball type, Bender & Hobein, München, FRG). Anschließend wird 100 µl Thrombin Reagenz (37°C) zugegeben. Die Zeit bis zur Bildung des Fibrinbeklumpen wird bestimmt.

45

Beispiel C

Chromogener Test für Thrombin Inhibitoren

- Reagenzien: Humanes Plasma Thrombin (Nr. T-8885, Sigma,
5 Deisenhofen, Deutschland)
Substrat: H-D-Phe-Pip-Arg-pNA2HCl (S-2238,
Chromogenix, Mölndahl, Schweden)
Puffer: Tris 50 mmol/l, NaCl 154 mmol/l, pH 8.0

10 Experimentelle Durchführung:

- Der chromogene Test kann in Mikrotiterplatten durch-
geführt werden. 10 µl Substanz Lösung in DMSO werden
zu 250 µl Puffer mit Thrombin (finale Konzentration
0.1 NIH-Units/ml) gegeben und 5 Minuten bei 20 bis
15 28°C inkubiert. Der Test wird durch Zugabe von 50 µl
Substrat Lösung in Puffer (finale Konzentration
100 µmol/l) gestartet, bei 28°C inkubiert und nach
5 Minuten durch Zugabe von 50 µl Zitronensäure (35 %)
gestoppt. Die Absorption wird bei 405/630 nm
20 gemessen.

Beispiel D

Plättchenaggregation im Plättchen-reichen Plasma

- 25 Reagenzien: Humanes Plasma Thrombin (Nr. T-8885, Sigma,
Deisenhofen, Deutschland)

Herstellung des citratreichen Plättchen-reichen Plasma:

- 30 Venöses Blut aus der Vena cephalica von gesunden
medikamentenfreien Testpersonen wird gesammelt. Das
Blut wird 9 zu 1 mit 0,13 molarem Trinatriumcitrat
gemischt.
Plättchen-reiches Plasma (PRP) wird durch Zentri-
fugation bei 250 x g (10 Minuten bei Raumtemperatur)
35 hergestellt. Plättchen-armes Plasma (PPP) wird durch
Zentrifugation für 20 Minuten bei 3600 x g her-
gestellt. PRP und PPP können für 3 Stunden bei
Raumtemperatur in verschlossenen PE-Gefäßen auf-
gehoben werden. Die Plättchen-Konzentration wird mit
40 einem Zellzähler gemessen und sollte zwischen 2,5 bis
2,8·10⁸/ml liegen.

Experimentelles Verfahren:

- 45 Die Plättchen-Aggregation wird turbidimetrisch bei
37°C gemessen (PAP 4, Biodata Corporation, Horsham,
PA, USA). Bevor Thrombin zugegeben wird, werden
215,6 µl PRP für 3 Minuten mit 2,2 µl Testsubstanz

53

inkubiert und anschließend 2 Minuten bei 1000 rpm gerührt. Bei einer finalen Konzentration von 0,15 NIH-Units/ml führen 2,2 µl Thrombinlösung zum maximalen Aggregationseffekt bei 37°C/1000 rpm. Der inhibierte Effekt der Testsubstanzen wird bestimmt, indem die Aggregationsrate (Steigung) von Thrombin ohne Substanz mit der Rate von Thrombin mit Testsubstanz bei verschiedenen Konzentrationen verglichen wird.

5

10

15

20

25

30

35

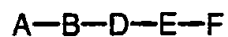
40

45

Patentansprüche

1. Verwendung von Verbindungen der Formel I

5

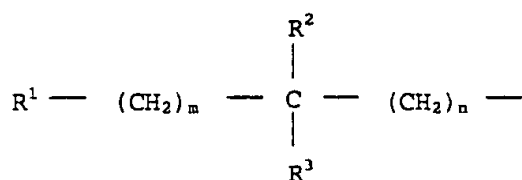


I

10 worin A, B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

A:

15



20

worin

m 0, 1, 2 oder 3,

n 0, 1 oder 2,

R¹ HOOC-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-, Aryl-C₀₋₄-Alkyl-OOC oder -OH,

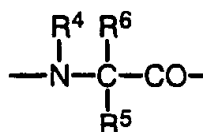
25

R² H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R¹-(CH₂)_m-,R³ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

darstellen,

30

B:



35

worin

R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl- oder R¹-(CH₂)_m- (wobei R¹ und m die oben
angegebene Bedeutung besitzen),

40

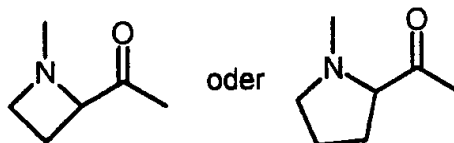
45

55

- R^6 $-\text{CH}_2-(\text{CR}^7\text{R}^8)_q-\text{W}$ oder $-(\text{CR}^7\text{R}^8)_q-\text{W}$ mit $q = 0$ oder 1 und $\text{W} =$
 H-, C_{1-8} -Alkyl-, 2-Thienyl-, 3-Thienyl-, 3-Indolyl-, 4-Imi-
 dazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-,
 welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der
 Gruppe C_{1-4} -Alkyl-, CF_3 -, C_{1-4} -Alkoxy-, HO-, BnO-, F- oder
 Cl- tragen kann, C_{3-8} -Cycloalkyl-, welches bis zu vier
 gleiche oder verschiedene C_{1-4} -Alkylreste tragen kann
 und/oder worin eine oder zwei C-C-Einfachbindungen im
 Ring durch eine C=C-Doppelbindung ersetzt sein können
 und/oder an welches ein Phenylring ankondensiert sein
 kann, C_7 - C_{12} -Bicycloalkyl- oder C_{10} -Tricycloalkyl-, oder
 R^4 und R^6 zusammen eine Butylengruppe oder eine
 $-(\text{CH}_2)_r-(\text{CR}^{12}\text{R}^8)_p$ -Gruppe mit $r = 2$ oder 3 und $p = 0$ oder 1
 und $\text{R}^{12} =$ Cyclohexyl-, Phenyl-, $\text{R}^8 = \text{H}$ oder C_{1-4} -Alkyl,
 R^5 H- oder C_{1-4} -Alkyl-,
 R^7 H, C_{1-8} -Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder
 verschiedene Reste der Gruppe C_{1-4} -Alkyl-, CF_3 -, C_{1-4} -Al-
 koxy-, F- oder Cl- tragen kann, C_{3-8} -Cycloalkyl-, welches
 bis zu vier gleiche oder verschiedene C_{1-4} -Alkylreste
 tragen kann,
 R^8 H oder C_{1-4} -Alkyl-,
 bedeuten,

D:

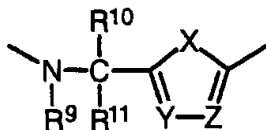
25



30

E:

35



worin

- X S, O oder NH,
 Y $-\text{N}=\text{}$ oder $-\text{CH}=\text{}$,
 Z $-\text{N}=\text{}$ oder $-\text{CH}=\text{}$ bedeuten,

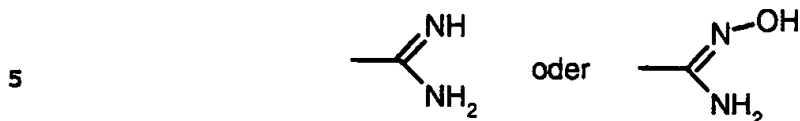
40

und

- R^9 H- oder C_{1-3} -Alkyl-,
 R^{10} H- oder C_{1-4} -Alkyl-,
 R^{11} H- oder C_{1-4} -Alkyl- bedeuten,

45

F:



10 sowie deren Prodrugs und deren Salze mit physiologisch verträglichen Säuren, zur Herstellung von Arzneimitteln gegen Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Kininogenasen, insbesondere Kallikrein beruht.

15 2. Verwendung von Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 1 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Entzündungs-erkrankungen, wie Asthma, Pankreatitis, Rhinitis, Arthritis, Urticaria und anderen inneren Krankheiten, bei denen Kallikrein eine Rolle spielt.

20 3. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei bei den Verbindungen der Formel I die Gruppen A, B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

25 A: $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_t-$, $\text{C}_{1-6}\text{-Alkyl-OOC}-(\text{CH}_2)_t-$, ($t = 1, 2$ oder 3),
 $(\text{HOOC-CH}_2)_2\text{-CH-}$, $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH(COOH)-}$, $\text{HOOC-CH(C}_{1-4}\text{-Alkyl)-}$,
 $\text{HOOC-C(C}_{1-4}\text{-Alkyl)}_2-$,

B:



35 R⁴ H-, $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-}$, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_m-$ ($m = 1, 2$ oder 3),
R⁵ H-, Methyl-
R⁶ -W, $-\text{CH}_2-(\text{CR}^7\text{R}^8)-\text{W}$ mit $\text{W} = \text{C}_{1-8}\text{-Alkyl-}$, 2-Thienyl,
3-Thienyl, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-,
3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu drei
40 gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe CH_3- , CF_3- ,
 $\text{CH}_3\text{O-}$, HO- , BnO- , F- oder Cl- tragen kann, Cyclopentyl-,
Cyclohexyl-, Cycloheptyl-, Cyclooctyl-, welche Cyclo-
alkylreste bis zu vier Methylreste tragen können,
Adamantyl-, Indanyl-, oder $-\text{CH}_2\text{-W}$ mit $\text{W} = \text{C}_{1-8}\text{-Alkyl-}$,
2-Thienyl, 3-Thienyl, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-,
45 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches
bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe
 $\text{C}_{1-4}\text{-Alkyl-}$, CF_3- , $\text{C}_{1-4}\text{-Alkoxy-}$, HO- , BnO- , F- oder Cl-

57

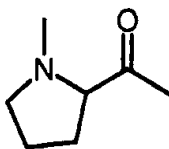
tragen kann, Cyclopentyl-, Cycloheptyl-, Cyclooctyl-, welche Cycloalkylreste bis zu vier Methylreste tragen können, Adamantyl-, Indanyl-,

5 R^7 H-, C_{1-8} -Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C_{1-4} -Alkyl-, CF_3 -, C_{1-4} -Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C_{3-8} -Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C_{1-4} -Alkylreste tragen kann,

10 R^8 H- oder C_{1-4} -Alkyl-,

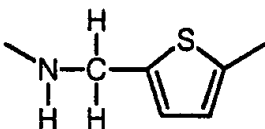
D:

15



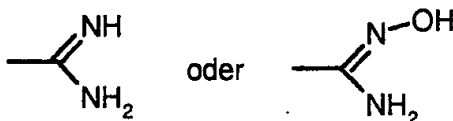
E:

20



F:

25

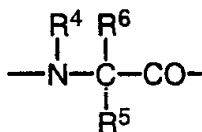


30 4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei bei den Verbindungen der Formel I die Gruppen A, B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

35 A: C_{1-6} -Alkyl-OOC-(CH_2) $_t$ -, ($t = 1, 2$ oder 3), $HOOC-(CH_2)_2$ -, $HOOC-(CH_2)_3$ -, $(HOOC-CH_2)_2-CH$ -, $HOOC-CH_2-CH(COOH)$ -, $HOOC-CH(C_{1-4}-Alkyl)$ -, $HOOC-C(C_{1-4}-Alkyl)_2$ -,

B:

40



45 R^4 H-, C_{1-4} -Alkyl-, $HOOC-(CH_2)_m$ - ($m = 1, 2$ oder 3),

R^5 H-, Methyl-

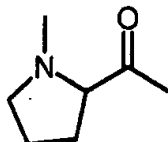
R^6 -(CR^7R^8)-W mit W = Cyclohexyl-, welches bis zu vier Methylreste tragen kann,

58

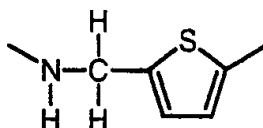
R⁷ H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkyl-

R⁸ H- oder C₁₋₄-Alkyl,

D:



E:



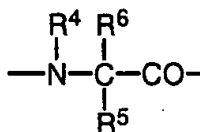
F:



5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei bei den Verbindungen der Formel I die Gruppen A, B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

A: HOOC-(CH₂)_t-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-(CH₂)_t-, (t = 1, 2 oder 3), (HOOC-CH₂)₂-CH-, HOOC-CH₂-CH(COOH)-, HOOC-CH(C₁₋₄-Alkyl)-, HOOC-C(C₁₋₄-Alkyl)₂-,

B:



R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl- oder HOOC-(CH₂)_m- (m = 1, 2 oder 3),

R⁵ H-, Methyl-,

R⁶ -CH₂-(CR⁷R⁸)-W oder -(CR⁷R⁸)_q-W mit q = 0 oder 1 und W = H-, C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 3-Indolyl-, 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene

59

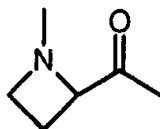
Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, HO-, BnO-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste

5 R⁷ H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkyl-

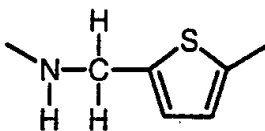
10 R⁸ H- oder C₁₋₄-Alkyl-,

D:

15



20 E:



25 F:



30

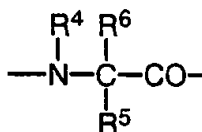
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei bei den Verbindungen der Formel I die Gruppen A, B, D, E und F folgende Bedeutung besitzen:

35

A: HOOC-(CH₂)_t- (t = 1, 2 oder 3), (HOOC-CH₂)₂-CH-,
HOOC-CH₂-CH(COOH)-, HOOC-CH(C₁₋₄-Alkyl)-,
HOOC-C(C₁₋₄-Alkyl)₂-, C₁₋₆-Alkyl-OOC-(CH₂)_t-,

40

B:



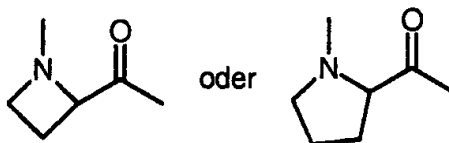
45

60

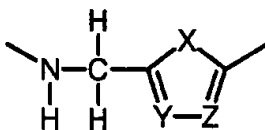
- R⁴ H-, C₁₋₄-Alkyl- oder HOOC-(CH₂)_m- (m = 1, 2 oder 3),
 R⁵ H-, Methyl-,
 R⁶ -CH₂-(CR⁷R⁸)-W oder -(CR⁷R⁸)_q-W mit q = 0 oder 1 und W =
 5 H-, C₁₋₈-Alkyl-, 2-Thienyl, 3-Thienyl, 3-Indolyl-,
 4-Imidazolyl-, 2-Pyridyl-, 3-Pyridyl-, 4-Pyridyl-,
 Phenyl-, welches bis zu drei gleiche oder verschiedene
 Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-, C₁₋₄-Alkoxy-, HO-,
 BnO-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-, welches
 10 bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkylreste
 tragen kann, Adamantyl-, Indanyl-,
 R⁷ H-, C₁₋₈-Alkyl-, Phenyl-, welches bis zu drei gleiche
 oder verschiedene Reste der Gruppe C₁₋₄-Alkyl-, CF₃-,
 C₁₋₄-Alkoxy-, F- oder Cl- tragen kann, C₃₋₈-Cycloalkyl-,
 15 welches bis zu vier gleiche oder verschiedene C₁₋₄-Alkyl-
 reste tragen kann,
 R⁸ H- oder C₁₋₄-Alkyl,

D:

20



25 E:



30

worin entweder

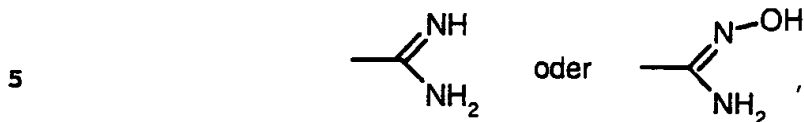
- a) im Fall von X = O oder NH,
 Y -N=, -CH= und
 35 Z -N=, -CH= bedeuten

oder

- b) im Fall von X = S,
 40 Y -N= und
 Z -N=, -CH= bedeuten
 oder
 Y -CH= und
 Z -N= bedeuten

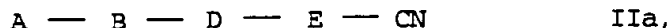
45

F:

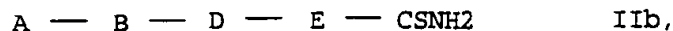


7. Verbindungen der Formel I gemäß einem der Ansprüche 1, 3, 4, 5 oder 6, wobei jedoch I nicht (N-(Carboxy(CH₂)_n)-D-cyclohexylalanyl-N[[5-aminoiminomethyl]thiophen-2-yl]methyl]-L-prolinamid, mit n = 1, 2 oder 3, sein darf.
8. Arzneimittel, enthaltend Verbindungen gemäß Anspruch 7 neben üblichen Träger- und Hilfsstoffen.
9. Verwendung der Verbindungen der Formel I gemäß Anspruch 7 zur Herstellung von Arzneimitteln gegen:
- Krankheiten, deren Pathomechanismus direkt oder indirekt auf der proteolytischen Wirkung von Thrombin beruht,
 - Krankheiten, deren Pathomechanismus auf der thrombinabhängigen Aktivierung von Rezeptoren und Signaltransduktionen beruht,
 - Krankheiten, die mit Stimulation oder Inhibition von Genexpressionen in Körperzellen einhergehen,
 - Krankheiten, die auf der mitogenen Wirkung von Thrombin beruhen,
 - Krankheiten, die auf einer thrombinabhängigen Kontraktilitäts- und Permeabilitätsveränderung von Epithelzellen beruhen,
 - thrombinabhängige, thromboembolische Ereignisse,
 - disseminierte intravasale Koagulation,
 - Reokklusion und zur Verkürzung der Reperfusionzeit bei Komedikation mit Thrombolytika,
 - das Auftreten von früher Reokklusion und später Restenosierung nach PTCA,
 - die thrombinabhängige Proliferation von Glattmuskulzellen,
 - die Akkumulation aktiven Thrombins im ZNS,
 - das Tumorstadium sowie gegen die Adhäsion und Metastasierung von Tumorzellen.
10. Verbindungen der Formel I gemäß einem der Ansprüche 1, 3, 4, 5 oder 6 zur Beschichtung von Oberflächen.

11. Zwischenprodukte der Formel IIa und IIb



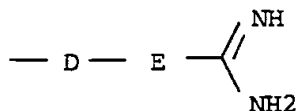
5



worin A, B, D und E die in einem der Ansprüche 1, 3, 4, 5 oder 6 angegebene Bedeutung besitzen.

10

12. Verwendung von Verbindungen, die das Strukturelement

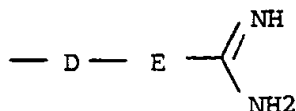


15

enthalten, worin D und E die in einem der Ansprüche 1, 3, 4, 5 oder 6 angegebene Bedeutung besitzen und sich am Stickstoffatom von Baustein D ein Wasserstoffatom, eine Schutzgruppe, eine gegebenenfalls substituierte natürliche oder unnatürliche Aminosäure, eine gegebenenfalls substituierte Carbonsäure oder Sulfonsäure oder ein gegebenenfalls substituierter Alkylrest befindet, zur Herstellung von Arzneimitteln, die Kallikrein-Inhibitoren enthalten.

20

25 13. Verwendung von Verbindungen, die das Strukturelement



30

enthalten, worin D und E die in einem der Ansprüche 1, 3, 4, 5 oder 6 angegebene Bedeutung besitzen und sich am Stickstoffatom von Baustein D ein Wasserstoffatom, eine Schutzgruppe, eine gegebenenfalls substituierte natürliche oder unnatürliche Aminosäure, eine gegebenenfalls substituierte Carbonsäure oder Sulfonsäure oder ein gegebenenfalls substituierter Alkylrest befindet, zur Herstellung von Arzneimitteln, die Thrombininhibitoren enthalten, wobei das Strukturelement D nicht Prolin sein darf, wenn E 5-(Aminoiminomethyl)thiophen-2-yl-methylamin ist.

35

40

45

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No

PCT/EP 99/00435

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 C07D205/04 C07K5/06

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07D C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A,P	DE 196 32 773 A (BASF AG) 19 February 1998 see claims 1-7	1-13
A	DE 195 06 610 A (BASF AG) 29 August 1996 see claims 1-4	1-13
A	DE 195 04 504 A (BASF AG) 14 August 1996 see claims 1-4	1-13
A	WO 96 25426 A (BASF AG) 22 August 1996 see claims 1-4	1-13
A	WO 94 29336 A (ASTRA AKTIEBOLAG) 22 December 1994 cited in the application see claims 1-48	1-13
-/--		



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 May 1999

Date of mailing of the international search report

19/05/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Siatou, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No

PCT/EP 99/00435

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 672 658 A (ELI LILLY AND COMPANY) 20 September 1995 cited in the application see page 90 - page 93; example 65 see claims 1-19 ---	1-13
A	OKONOGI K ET AL: "Preparation of amino acid and peptide N -heterocyclylcarbonylalkylamides as thrombin inhibitors, 124:317893a" CHEMICAL ABSTRACTS + INDEXES, vol. 23, no. 124, 1 January 1996, page 1296 XP002017940 see abstract ---	1-13
A	MARKWARDT F: "SYNTHETIC, LOW MOLECULAR THROMBIN INHIBITORS. A NEW CONCEPT OF ANTICOAGULANTS.?" HAEMOSTASIS, vol. 3, no. 4, 1 January 1974, pages 185-202, XP000575085 -----	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/00435

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19632773 A	19-02-1998	AU 3941797 A WO 9806741 A HR 970441 A	06-03-1998 19-02-1998 30-06-1998
DE 19506610 A	29-08-1996	AU 4787596 A BR 9607412 A CA 2210989 A CN 1173872 A CZ 9702376 A WO 9624609 A EP 0809651 A FI 973282 A JP 10513462 T NO 973657 A	27-08-1996 07-07-1998 15-08-1996 18-02-1998 15-04-1998 15-08-1996 03-12-1997 08-08-1997 22-12-1998 03-10-1997
DE 19504504 A	14-08-1996	AU 4787596 A BR 9607412 A CA 2210989 A CN 1173872 A CZ 9702376 A WO 9624609 A EP 0809651 A FI 973282 A JP 10513462 T NO 973657 A	27-08-1996 07-07-1998 15-08-1996 18-02-1998 15-04-1998 15-08-1996 03-12-1997 08-08-1997 22-12-1998 03-10-1997
WO 9625426 A	22-08-1996	AU 4875196 A BG 101835 A BR 9607582 A CA 2211109 A CN 1175953 A CZ 9702457 A EP 0873356 A FI 973360 A HR 960075 A HU 9800263 A JP 11500120 T NO 973764 A PL 321759 A SI 9620037 A	04-09-1996 29-05-1998 07-07-1998 22-08-1996 11-03-1998 17-06-1998 28-10-1998 15-08-1997 31-12-1997 29-06-1998 06-01-1999 15-10-1997 22-12-1997 28-02-1998
WO 9429336 A	22-12-1994	AU 684086 B AU 6986994 A BR 9406746 A CA 2162900 A CN 1127509 A CZ 9503020 A EP 0701568 A FI 955828 A HR 940311 A HU 74739 A JP 8511018 T LT 1947 A,B MX 9404114 A NO 954873 A NZ 267534 A PL 311819 A SG 48013 A	04-12-1997 03-01-1995 19-03-1996 22-12-1994 24-07-1996 17-04-1996 20-03-1996 04-12-1995 31-10-1996 28-02-1997 19-11-1996 27-12-1994 31-01-1995 01-02-1996 22-08-1997 18-03-1996 17-04-1998

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/00435

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9429336 A		SK 145495 A	01-10-1996
		US 5780631 A	14-07-1998
		US 5602253 A	11-02-1997
		US 5783563 A	21-07-1998
		US 5723444 A	03-03-1998
		US 5856307 A	05-01-1999
EP 672658 A	20-09-1995	AU 684918 B	08-01-1998
		AU 1975295 A	18-09-1995
		BR 9506979 A	18-11-1997
		CA 2183464 A	09-08-1995
		CN 1147205 A	09-04-1997
		CZ 9602584 A	11-06-1997
		FI 963451 A	03-09-1996
		HU 76330 A	28-08-1997
		JP 9509937 T	07-10-1997
		NO 963684 A	28-10-1996
		NZ 282588 A	19-12-1997
		PL 320637 A	13-10-1997
		WO 9523609 A	08-09-1995
		US 5705487 A	06-01-1998
		US 5726159 A	10-03-1998
		US 5707966 A	13-01-1998

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/00435

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 6 C07D205/04 C07K5/06

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationsymbole)

IPK 6 C07D C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A,P	DE 196 32 773 A (BASF AG) 19. Februar 1998 siehe Ansprüche 1-7 ---	1-13
A	DE 195 06 610 A (BASF AG) 29. August 1996 siehe Ansprüche 1-4 ---	1-13
A	DE 195 04 504 A (BASF AG) 14. August 1996 siehe Ansprüche 1-4 ---	1-13
A	WO 96 25426 A (BASF AG) 22. August 1996 siehe Ansprüche 1-4 ---	1-13
A	WO 94 29336 A (ASTRA AKTIEBOLAG) 22. Dezember 1994 in der Anmeldung erwähnt siehe Ansprüche 1-48 ---	1-13
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

10. Mai 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

19/05/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Siatou, E

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 672 658 A (ELI LILLY AND COMPANY) 20. September 1995 in der Anmeldung erwähnt siehe Seite 90 - Seite 93; Beispiel 65 siehe Ansprüche 1-19 -----	1-13
A	OKONOGI K ET AL: "Preparation of amino acid and peptide N -heterocyclylcarbonylalkylamides as thrombin inhibitors, 124:317893a" CHEMICAL ABSTRACTS + INDEXES, Bd. 23, Nr. 124, 1. Januar 1996, Seite 1296 XP002017940 siehe Zusammenfassung -----	1-13
A	MARKWARDT F: "SYNTHETIC, LOW MOLECULAR THROMBIN INHIBITORS. A NEW CONCEPT OF ANTICOAGULANTS.?" HAEMOSTASIS, Bd. 3, Nr. 4, 1. Januar 1974, Seiten 185-202, XP000575085 -----	1-13

INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/00435

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 19632773 A	19-02-1998	AU 3941797 A WO 9806741 A HR 970441 A	06-03-1998 19-02-1998 30-06-1998
DE 19506610 A	29-08-1996	AU 4787596 A BR 9607412 A CA 2210989 A CN 1173872 A CZ 9702376 A WO 9624609 A EP 0809651 A FI 973282 A JP 10513462 T NO 973657 A	27-08-1996 07-07-1998 15-08-1996 18-02-1998 15-04-1998 15-08-1996 03-12-1997 08-08-1997 22-12-1998 03-10-1997
DE 19504504 A	14-08-1996	AU 4787596 A BR 9607412 A CA 2210989 A CN 1173872 A CZ 9702376 A WO 9624609 A EP 0809651 A FI 973282 A JP 10513462 T NO 973657 A	27-08-1996 07-07-1998 15-08-1996 18-02-1998 15-04-1998 15-08-1996 03-12-1997 08-08-1997 22-12-1998 03-10-1997
WO 9625426 A	22-08-1996	AU 4875196 A BG 101835 A BR 9607582 A CA 2211109 A CN 1175953 A CZ 9702457 A EP 0873356 A FI 973360 A HR 960075 A HU 9800263 A JP 11500120 T NO 973764 A PL 321759 A SI 9620037 A	04-09-1996 29-05-1998 07-07-1998 22-08-1996 11-03-1998 17-06-1998 28-10-1998 15-08-1997 31-12-1997 29-06-1998 06-01-1999 15-10-1997 22-12-1997 28-02-1998
WO 9429336 A	22-12-1994	AU 684086 B AU 6986994 A BR 9406746 A CA 2162900 A CN 1127509 A CZ 9503020 A EP 0701568 A FI 955828 A HR 940311 A HU 74739 A JP 8511018 T LT 1947 A,B MX 9404114 A NO 954873 A NZ 267534 A PL 311819 A SG 48013 A	04-12-1997 03-01-1995 19-03-1996 22-12-1994 24-07-1996 17-04-1996 20-03-1996 04-12-1995 31-10-1996 28-02-1997 19-11-1996 27-12-1994 31-01-1995 01-02-1996 22-08-1997 18-03-1996 17-04-1998

INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 99/00435

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9429336 A		SK 145495 A	01-10-1996
		US 5780631 A	14-07-1998
		US 5602253 A	11-02-1997
		US 5783563 A	21-07-1998
		US 5723444 A	03-03-1998
		US 5856307 A	05-01-1999
EP 672658 A	20-09-1995	AU 684918 B	08-01-1998
		AU 1975295 A	18-09-1995
		BR 9506979 A	18-11-1997
		CA 2183464 A	09-08-1995
		CN 1147205 A	09-04-1997
		CZ 9602584 A	11-06-1997
		FI 963451 A	03-09-1996
		HU 76330 A	28-08-1997
		JP 9509937 T	07-10-1997
		NO 963684 A	28-10-1996
		NZ 282588 A	19-12-1997
		PL 320637 A	13-10-1997
		WO 9523609 A	08-09-1995
		US 5705487 A	06-01-1998
		US 5726159 A	10-03-1998
		US 5707966 A	13-01-1998